

BARBARA WIEWIÓRA¹**MARIA PRONCZUK**¹**ANNA OSTROWSKA**²¹ Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Radzików² Hodowla Roślin, Bartązek

Infekcja nasion traw przez endofity w kolejnych latach użytkowania plantacji

The infestation of seed of grasses by endophytes in successive years of harvesting

Celem badań było określenie rozprzestrzeniania się infekcji nasion *Festuca pratensis* L. i *Lolium perenne* L. przez grzyby endofityczne w zależności od lat użytkowania plantacji. Badano nasiona z trzech kolejnych lat zbioru z plantacji *F. pratensis* odmiany Justa i *L. perenne* odmiany Vigor. Nasiona użyte do siewu tych plantacji były porażone w około 90% grzybami endofitycznymi. Identyfikację grzybni *Neotyphodium* w ziarniakach przeprowadzono metodą mikroskopową po zabarwieniu błękitem anilinowym. Stwierdzono, że rok zbioru wpływa na zasiedlenie nasion przez grzyby z rodzaju *Neotyphodium*. W pierwszym roku zbioru notowano 75–80% nasion porażonych. W kolejnych latach zbioru liczba nasion porażonych wzrastała do 93% zarówno na plantacji *F. pratensis* cv. 'Justa' jak i *L. perenne* cv. Vigor.

Słowa kluczowe: *Festuca pratensis*, grzyby endofityczne, *Lolium perenne*, nasiona traw, rok użytkowania

The objective of the study was to determine rates of spread of seed infestation by endophytic fungi in *Festuca pratensis* L. cv. Justa and *Lolium perenne* L. cv. Vigor in three successive years of plantation utilization. The seeds used for sowing were infected by endophytes in about 90%. To detect *Neotyphodium* mycelium under the microscope, the seeds were stained with aniline blue. In the first-year harvest, the seeds were found to be infested in 75–80%. In the subsequent years, the proportions of infested seeds increased up to 93% in *F. pratensis* cv. Justa and *L. perenne* cv. Vigor alike.

Key words: endophytic fungi, *Festuca pratensis*, grasses, harvest year, *Lolium perenne*, seed

WSTĘP

Endofitami nazywane są mikroorganizmy, które część lub całe swoje życie zasiedlają bezobjawowo tkanki swoich gospodarzy (Petroni, 1986). Wiele gatunków traw może być zasiedlanych przez grzyby endofityczne, ale najczęściej grzyby te występują u *Lolium perenne* L. i *Festuca* spp. Do typowych endofitów zaliczane są gatunki grzybów z rodzaju *Neotyphodium* takie jak: *N. lolii* Latch, Christensen & Samuels współżyjący z *L. perenne*, *N. coenophialum* Morgan-Jones & Gams współżyjący z *F. arundinacea* i *N. uncinatum*

Gams, Petroni & Schmidt występujący u *F. pratensis*. Grzyby te przenoszone są z nasionami, a ich grzybnia zasiedla głównie warstwę aleuronową (White, 1987; Siegel i in., 1985).

Współżycie traw z grzybami endofitycznymi ma dodatnie i ujemne aspekty. Endofity przynoszą trawom wiele korzyści: wzbudzają mechanizmy tolerancji na suszę oraz regeneracji uszkodzeń po długotrwałej suszy, wpływają na oszczędną gospodarkę azotem i lepszą przyswajalność fosforu (Malinowski i Belesky, 2000). Trawy zasiedlone przez endofity są odporne na szkodniki, nicienie oraz niektóre choroby (Siegel i in., 1985). Charakteryzują się obfitym krzewieniem, trwałością i wykazują większą konkurencyjność w stosunku do traw nie zasiedlonych przez te grzyby (Funk i in., 1994). Jednak obecność endofitów w roślinach może być także zagrożeniem dla zwierząt. Stwierdzono, że niektóre z wytwarzanych przez te grzyby alkaloidów są toksyczne dla zwierząt. Znane są dwie groźne choroby u bydła, których czynnikiem sprawczym są endofity współżyjące z trawami na pastwiskach: "ryegrass staggers syndrome" i "fescue toxinsosis" (Siegel i in., 1985).

Dotychczasowe, nieliczne badania nad endofitami w Polsce wskazują, że grzyby z rodzaju *Neotyphodium* zasiedlają nasiona polskich odmian traw (Cagaš i Hofbauer, 1991; Pańska i Łukanowski, 2000; Pańska i Sadowski, 2002, Pańska i in. 2004). Występowanie tych grzybów stwierdzano także w roślinach pochodzących z polskich użytków zielonych (Pfanmüller i in., 1994; Lewis, 2000). Wyniki tych prac sugerują, że nasiona niektórych odmian mogą być bardzo licznie zasiedlone przez endofity, ale wyniki analiz różnią się np. wg oceny przeprowadzonej we Francji (przez firmę R.A.G.T.) ziarniaki odmiany kostrzewy łąkowej Pasja były zasiedlone w 34% przez *Neotyphodium uncinatum* (dane nie publikowane). Pańska i wsp. (2004) donoszą o zasiedleniu nasion tej odmiany w 52% przez te grzyby. Nasze wstępne wyniki analiz wskazują na zasiedlenie nasion w 74%. Niewielki zakres badań i niejednoznaczne opinie dotyczące stopnia zasiedlenia odmian przez endofity wskazują na konieczność poszerzenia badań nad grzybami z rodzaju *Neotyphodium* oraz ich obecnością w materiale siewnym traw w Polsce.

Celem prac podjętych w 2001 roku było określenie rozprzestrzeniania się infekcji nasion przez grzyby endofityczne u wybranych odmian *Festuca pratensis* L. i *Lolium perenne* L. w zależności od lat użytkowania plantacji.

MATERIAŁ I METODY

Materiałem do badań były ziarniaki *L. perenne* odmiany Vigor oraz ziarniaki *F. pratensis* odmiany Justa zasiedlone w około 90% przez endofity. Nasiona odmiany Vigor otrzymano w roku 2000 z INRA PG (Institut National Agronomique Paris-Grignon) we Francji. Mikro-plantacje tej odmiany założono w 2001 roku na polu doświadczalnym IHAR w Radzikowie, z której zbierano nasiona przez okres trzech lat. Plantacja odmiany Justa założona została w 2001 roku w ZDHAR w Bartążku. Z tej plantacji zbierano corocznie nasiona. W 2004 przekazano próby nasion z czterech lat zbioru do analizy w Radzikowie.

Do wykrywania grzybów z rodzaju *Neotyphodium* zastosowano metodę mikroskopową polecaną przez Międzynarodowy Związek Oceny Nasion (ISTA), a opisaną przez Welty i Rennie (1985). Postępując według tej metody pobierano 500 ziarniaków z każdej próby, które badano w 5 analizach po 100 ziarniaków każda. Ziarniaki moczoło przez około 15 godzin w temperaturze pokojowej w 20-30 ml 5% zasady sodowej (NaOH) zawierającej 0,1% błękitu anilinowego. Potem nasiona płukano w wodzie destylowanej, a po odsączeniu zalewano 20-30 ml laktofenu (1:1:1:5 odpowiednio: 85% kwas mlekowy, fenol, gliceryna i woda dejonizowana). Następnie dodawano 0,1% błękitu anilinowego i gotowano przez 15 min, po czym płukano w destylowanej wodzie. Poszczególne ziarniaki umieszczano na szkiełku podstawowym w kropli roztworu gliceryny i destylowanej wody (w stosunku 1:2), przykrywano szkiełkiem przykrywkowym i przeglądano przy użyciu mikroskopu świetlnego pod powiększeniem $\times 100$ oraz $\times 400$. Notowano liczbę ziarniaków, w których stwierdzono obecność strzępek grzybni *Neotyphodium*.

WYNIKI I DYSKUSJA

W analizowanych próbach nasion stwierdzono wysoki stopień infekcji ziarniaków przez grzyby z rodzaju *Neotyphodium* sięgający 93% zarówno u kostrzewy łąkowej odmiany Justa, jak i u życicy trwałej odmiany Vigor (tab. 1 i 2).

Tabela 1

Zawartość endofitów w nasionach kostrzewy łąkowej (*Festuca pratensis*) odm. Justa w kolejnych latach użytkowania plantacji
Endophyte content in seed of meadow fescue (*Festuca pratensis*) cv. Justa in particular years of seed harvesting

Pochodzenie nasion Origin of seeds	Rok zbioru nasion Year of seed harvest	Rok użytkowania plantacji Year of plantation utilization	Procent nasion zasiedlonych przez endofity Percentage of seeds with endophytes
Bartązek	2001	Siew plantacji Plantation sowing	93,2
Bartązek	2002	I rok zbioru I year of harvest	76,8
Bartązek	2003	II rok zbioru II year of harvest	92,8
Bartązek	2004	III rok zbioru III year of harvest	89,8
NIR Fischera LSD according to Fischer			19,8

Badania przeprowadzone w wielu krajach Ameryki i Europy wykazały, że wiele gatunków traw może być zasiedlane przez grzyby endofityczne. Wysokie zasiedlenie nasion, dochodzące nawet do 100%, stwierdzano najczęściej u gatunków *Festuca* i *Lolium perenne* (Funk i in., 1994; Schöberlein i in., 1995; Eggestein i in., 1996; Guillaumin i in., 2000; Leyronas i Raynal, 2001; Cagaš, 2005). W wielu pracach znaleźć można również informacje o 100% porażeniu traw na pastwiskach (Welty i in., 1986; Fletcher i Easton, 2000; Reed i in., 2000). Badania nasion pochodzących z naturalnych zbiorowisk traw w Finlandii (Wäli i in., 2000), wykazały duże zróżnicowanie w ich zasiedleniu przez

Neotyphodium spp. Najwyższe jednak zasiedlenie stwierdzono u rodzaju *Festuca*. Lewis (1996) donosi, że w wielu europejskich krajach trawy, a w szczególności dzikie populacje *Lolium perenne*, są często zasiedlane przez grzyby endofityczne. W Polsce badania nad endofitami dotyczyły jedynie kilku odmian *L. perenne* oraz jednej odmiany *F. pratensis* (Pańka i Łukanowski, 2000; Pańka i Sadowski, 2002; Pańka i in., 2004). Uzyskane przez tych autorów wyniki wykazały dość niskie zasiedlenie ziarniaków u odmian życicy trwałej, a dość wysokie u kostrzewy łąkowej odmiany Pasja (52%).

Tabela 2

Zawartość endofitów w nasionach życicy trwałej (*Lolium perenne*) odm. Vigor w kolejnych latach użytkowania plantacji
Endophytes content in seed of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) cv. Vigor in particular years of seed harvesting

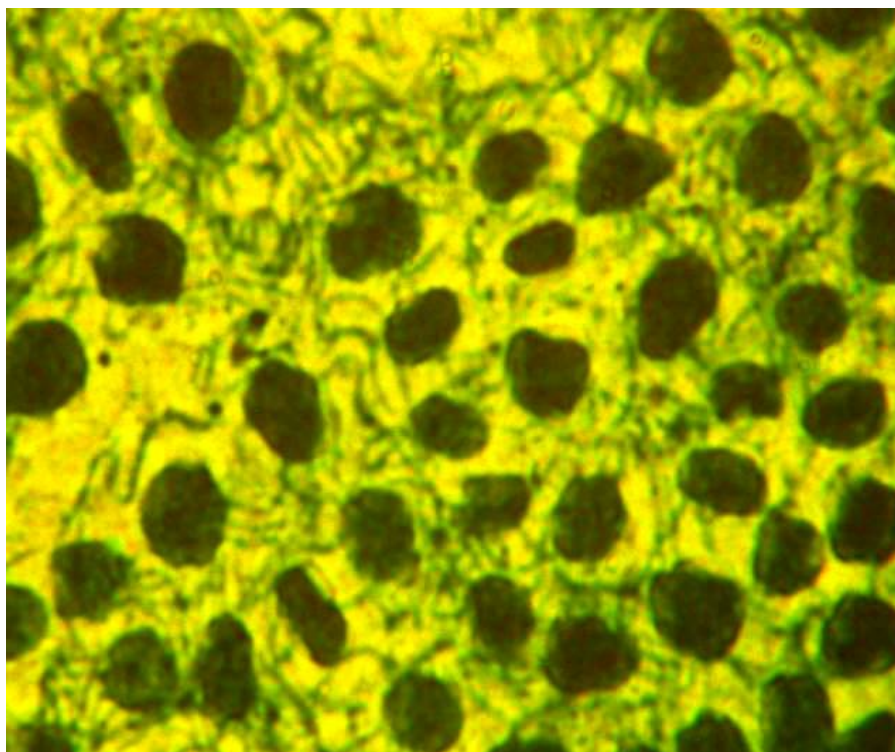
Pochodzenie nasion Origin of seeds	Rok zbioru nasion Year of seed harvest	Rok użytkowania plantacji Year of plantation utilization	Procent nasion zasiedlonych przez endofity Percentage of seeds with endophytes
INRA — Francja	2000	Siew plantacji Plantation sowing	88,0
Radzików	2002	I rok zbioru I year of harvest	78,8
Radzików	2003	II rok zbioru II year of harvest	88,0
Radzików	2004	III rok zbioru III year of harvest	93,0
NIR Fischera LSD according to Fischer			9,9

Wstępne nasze badania wskazywały na duże różnice w zawartości endofitów w próbach nasion pochodzących z różnych plantacji tej samej odmiany np. dla kostrzewy łąkowej odmiany Pasja zakres w próbach wahał się od 12% do 74%, a dla odmiany Justa od 55% do 83% (dane nie publikowane). Wyniki te sugerują, że wpływ na zawartość endofitów w nasionach może mieć wiele czynników np. zasiedlenie materiału użytego do siewu plantacji, lata użytkowania plantacji lub mikroklimat plantacji szczególnie sprzyjający rozwojowi tych grzybów. Prezentowane badania są próbą wyjaśnienia tego zjawiska.

Do badań wykorzystano nasiona kostrzewy łąkowej odmiany Justa i życicy trwałej odmiany Vigor o znanym, wysokim stopniu zasiedleniu przez endofity, które określono metodą barwienia błękitem anilinowym. Użyty barwnik powodował wybarwienie grzybni endofita, która zasiedlała głównie warstwę aleuronową (rys. 1 i 2). Rozmieszczenie grzybni w ziarniakach może być jednak różne (Prończuk, 2005). Wielu autorów obserwowało duże jej zagęszczenie w warstwie aleuronowej blisko jądra, co wskazywało na jej związek także z zarodkiem (Siegel i in., 1985; Welty i in., 1986).

Czteroletnie badania wykazały, że nasiona zebrane w pierwszym roku użytkowania, zarówno z mikro-plantacji założonej w Radzikowie, jak i z plantacji produkcyjnej zlokalizowanej w Bartążku, były w znacznie mniejszym stopniu zasiedlone przez endofity niż materiał użyty do siewu (tab. 1 i 2). Jednakże w następnych latach użytkowania obserwowano tendencję do sukcesywnego wzrostu liczby nasion z endofitami. W trzecim roku użytkowania procent zasiedlonych nasion był zbliżony lub nawet przewyższał

materiał wyjściowy. Infekcja nasion kostrzewy łąkowej odmiany Justa wahała się od 76,8% w pierwszym roku 92,8% w drugim i 89,8% w trzecim roku użytkowania plantacji (tab. 1). Podobnie przedstawiały się wyniki uzyskane dla nasion życicy trwałej odmiany Vigor. Ziarniaki zebrane w pierwszym roku były zasiedlone przez endofity w 78,8%, w drugim w 88,0%, a w trzecim roku użytkowania plantacji w 93,0% (tab. 2).

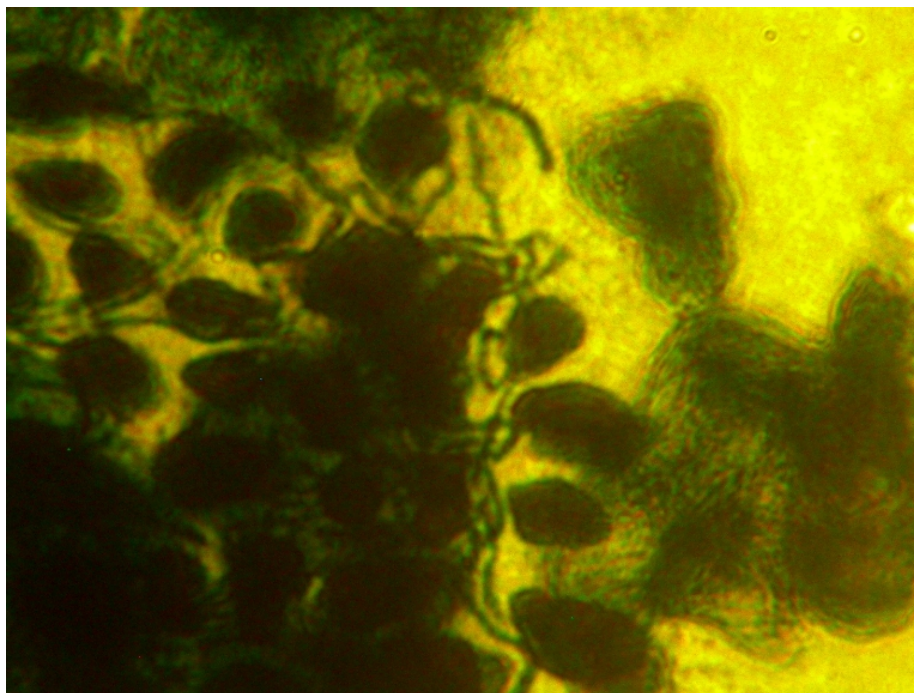


Rys. 1. Wybarwione strzępki grzybni *Neotyphodium* sp. widoczne pomiędzy ziarnami aleuronowymi u kostrzewy łąkowej (*Festuca pratensis*)

Fig. 1. Hyphae of *Neotyphodium* sp. associated with aleurone layer in seeds of meadow fescue (*Festuca pratensis*) stained with aniline blue

O podobnym wzroście infekcji nasion przez endofity w kolejnych latach zbioru nasion donosi Cagaš (2005). W jego badaniach tendencja wzrostowa zaznaczyła się wyraźnie w przypadku użycia do siewu nasion o niższym stopniu infekcji. Rolston i Rowarth (1995) uważają, że w momencie rozprzestrzeniania się infekcji nie zawsze następuje pełna transmisja endofita i dlatego nie we wszystkich wytworzonych przez roślinę pędach grzyb jest obecny. Hume i wsp. (2000) podają, że źródłem infekcji dla nowych upraw nasiennych i pastewnych mogą być także zasiedlone przez endofity nasiona znajdujące się w stanie spoczynku w glebie, co w pewnym stopniu może tłumaczyć obserwowany w niniejszych badaniach coroczny wzrost porażenia. Lewis (1996) twierdzi, że duży wpływ na obecność

endofitów ma wiek plantacji, a im starsza plantacja, tym większe porażenie roślin przez te grzyby. Nie potwierdzają tego jednak wyniki uzyskane przez Siegel i wsp. (1984), którzy nie obserwowali znaczących różnic w poziomie infekcji nasion u kostrzewy łąkowej w ciągu 4 lat użytkowania plantacji. Wyniki badań Cagaša (2005) wskazują także na dużą stabilność zasiedlenia nasion przez endofity w dalszych latach zbioru w przypadku użycia do siewu nasion o wysokim stopniu infekcji przez endofity.



Rys. 2. Strzępki grzybni *Neotyphodium* sp. widoczne pomiędzy ziarnami aleuronowymi u życicy trwałej (*Lolium perenne*)

Fig. 2. Hyphae of *Neotyphodium* sp. associated with aleurone layer in seeds of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) stained with aniline blue

Paul i wsp. (2000) donoszą, że europejskie odmiany życicy trwałej zawierają mało endofitów w porównaniu z odmianami pochodzącymi z Nowej Zelandii, Australii czy USA, ale dość wysoki poziom infekcji obserwowano u odmian wyhodowanych z ekotypów. Siegel i wsp. (1985) stwierdzili obecność *Acremonium coenophialum* w 7 z 13 polskich ekotypów kostrzewy łąkowej. Autorzy ci sugerują nawet europejskie pochodzenie tego grzyba i uważają, że analizując przyczyny zróżnicowanego poziomu infekcji przez endofity należy zwrócić uwagę na ich obecność w materiale, z którego wytworzono daną odmianę. Użyta do badań odmiana kostrzewy łąkowej Justa była wyhodowana z ekotypów. Natomiast pochodzenie odmiany życicy trwałej Vigor jest nam nieznane. Możliwe jest, że

nasiona lub rośliny tej odmiany mogły być zakażane izolatami grzybów *Neotyphodium*, co jest szeroko praktykowane w Ameryce i Nowej Zelandii (Hoveland, 2000).

Cappelli i Buonaurio (2000) twierdzą, że aby uniknąć rozprzestrzeniania się infekcji traw przez endofity w Europie, konieczna jest reprodukcja nasion objętych programem państwowej oceny przy użyciu czułych i szybkich metod wykrywających endofity w nasionach, która obejmowałaby materiały mateczne odmian. We Francji wprowadzono już zakaz rejestracji i obrotu nasionami odmian zawierających endofity (Bayle i in., 2003).

WNIOSKI

1. Nasiona traw w Polsce są zasiedlone przez grzyby z rodzaju *Neotyphodium*, które są przenoszone z materiałem siewnym. Wysoka infekcja nasion może występować już w pierwszym roku użytkowania plantacji.
2. Stwierdzono, że rok użytkowania plantacji ma znaczenie w zasiedleniu nasion przez grzyby z rodzaju *Neotyphodium*. W pierwszym roku zbioru zasiedlenie nasion jest mniejsze niż materiału użytego do siewu plantacji. W kolejnych latach użytkowania obserwowano tendencję wzrostu liczby ziarniaków zasiedlonych przez endofity.
3. Badania nasion traw na zawartość endofitów w Polsce, zwłaszcza przeznaczonych do wysiewu na paszę dla zwierząt, są konieczne i bardzo ważne gospodarczo.

LITERATURA

- Bayle B., Huyghe C., Gensollen V., Bourgoin B. 2003. System of variety testing and registration in France for forage and turf. Book of Abstracts of the 25th EUCARPIA Fodder Crops and Amenity Grasses Section Meeting. Brno, Czech Republic: 119.
- Cagaš B. 2005. The role endophytes *Neotyphodium* spp. in breeding of grasses for resistance to stress at the Grassland Research Station Rožnov-Zubří. W: Recent advances in genetics and breeding of the grasses. Zwierzykowski Z., Kosmala A (eds). IGR. PAN, Poznań: 177 — 190.
- Cagaš B., Hofbauer J. 1991. *Acremonium coenophialum* Morgan-Jones et W. Gams a obsah alkaloidu u koštravy rákosovile, Genet. a Šlecht. 27 (2-3): 205 — 212.
- Cappelli C., Buonaurio R. 2000. Occurrence of endophytic fungi in grass seeds and plants in Italy. Proc. of the 4th International *Neotyphodium*/Grass Interactions Symposium, Soest, Germany: 131 — 137.
- Eggstein S., Pfanmöller M., Schöberlein W. 1996. *Acremonium* spp. — occurrence in cultivars and collected ecotypes of the genus *Festuca*. The 2nd International Conference on Harmful and Beneficial Microorganisms in Grassland, Pastures and Turf. Krohn K., Paul V.H. (eds.) IOBC wprs Bulletin Vol. 19 (7): 161 — 167.
- Fletcher L. R., Easton H. S. 2000. Using endophytes for pasture improvement in New Zealand. Proc. of the 4th International *Neotyphodium*/Grass Interactions Symposium, Soest, Germany: 149 — 162.
- Funk C. R., Belanger F. C., Murphy J. A. 1994. Role of endophytes in grasses used for turf and soil conservation. In: Biotechnology of endophytic fungi of grasses. Bacon Ch. W., White J. F. Jr. (eds). CRC Press., Boca Raton: 201 — 209.

- Guillaumin J. J., Frain M., Pichon N., Ravel C. 2000. Survey of fungal endophytes in wild grass species in the Auvergne region (central France). Proc. of the 4th International *Neotyphodium*/Grass Interactions Symposium, Soest, Germany: 85 — 92.
- Hoveland C. S. 2000. Endophytes — research and impact. Proc. of the 4th International *Neotyphodium*/Grass Interaction Symposium. Soest, Germany: 123 — 130.
- Hume D., Rolston P., Baird D., Archie B., Marsh M. 2000. Endophyte — infected ryegrass seed in soil as a potential source of endophyte contamination of new pastures. Proc. of the 4th International *Neotyphodium*/Grass Interactions Symposium, Soest, Germany: 97 — 102.
- Lewis G.C. 1996. A review of research on endophytic fungi worldwide, and its relevance to European grassland, pastures and turf. The 2nd International Conference on Harmful and Beneficial Microorganisms in Grassland, Pastures and Turf. Krohn K., Paul V.H. (eds.) IOBC wprs Bulletin Vol. 19 (7): 17 — 25.
- Lewis G.C. 2000. *Neotyphodium* endophytes: incidence, diversity, and host in Europe. Proc. of the 4th International *Neotyphodium*/Grass Interaction Symposium. Soest, Germany: 123 — 130.
- Leyronas C., Raynal G. 2001. Presence of *Neotyphodium*-like endophytes in European grasses. Ann. Appl. Biol. 139: 119 — 129.
- 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.
- Pańska D., Łukanowski A. 2000. Occurrence of *Acremonium lolii* in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) cultivated in the Kujawy and Pomerania region of Poland. Proc. of the 4th International *Neotyphodium*/Grass Interactions Symposium, Soest, Germany: 419 — 421.
- Pańska D., Sadowski Cz. 2002. Occurrence of fungal endophytes in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) cultivars in Poland. In: Multi-functional grasslands quality forages, animal products and landscapes. Durand J.L. *et al.*, (eds.). Grassland science in Europe. Vol. 7: 540 — 541.
- Pańska 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 native value. In: Proc. of the 5th International Symposium on *Neotyphodium*/Grass Interactions. Kallenbach R *et al.* (eds.). Fayetteville, AR USA, May, 2004, 401: 88 — 90.
- Paul V.H., Ostbohmke H., Feuerstein U. 2000. Studies on dynamics of colonization of the endophytic fungus *Neotyphodium lolii* (Latch, Christensen & Samuels) Glenn, Bacon & Hanlin comb. Nov) (syn. *Acremonium lolii* (Latch, Christensen & Samuels) in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) in a European grass breeding process. Proc. Of the 4th International *Neotyphodium*/Grass Interactions Symposium, Soest, Germany: 71 — 77.
- Petroni O. 1986. Taxonomy of endophytic fungi of aerial plant tissues. In Microbiology of Phyllosphere. Cambridge. Cambridge University Press: 175 — 187.
- Pfannmüller M., Eggstein S., Schöberlein W. 1994. Endophytes in European varieties of *Festuca* species. IOBC wprs Bulletin 17/1: 101 — 109.
- Prończuk M. 2005. Endofity traw — znaczenie, występowanie i metody wykrywania. Przegląd literatury. Biul. IHAR 235: 297 — 309.
- Reed K. M., Walsh J. R., McFarlane N. M., Cross P. A. 2000. Australian perennial ryegrass pasture, endophyte frequency and associated alkaloid concentrations. Proc. of the 4th International *Neotyphodium*/Grass Interactions Symposium, Soest, Germany: 31 — 39.
- Rolston M. P., Rowarth J. S. 1995. Aspects of endophyte in ryegrass (*Lolium perenne*) seed production. Proc. of the Third International Herbage Seed Conference Yield and Quality in Herbage Seed Production, Halle (Saale), Germany: 433 — 437.
- Schöberlein W., Eggstein S., Pfannmüller M. 1995. Effects of endophyte-infected varieties of *Festuca pratensis* on seed production. Proc. of the Third International Herbage Seed Conference Yield and Quality in Herbage Seed Production, Halle (Saale), Germany: 438 — 442.

- Siegel M. R., Johnson M. C., Varney D. R., Nesmith W. C., Buckner R. C., Bush L. P., Burrus P. B., Jones T. A., Boling J. A. 1984. A fungal endophyte in tall fescue: Incidence and dissemination. *Phytopathology* 74: 932 — 937.
- 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.
- Wäli P., Saikkonen K., Helander M., Lehtimäki S., Lehtonen P. 2000. Seed transmitted endophytic fungi in wild grass population in Finland. Proc. of the 4th International *Neotyphodium*/Grass Interactions Symposium, Soest, Germany: 93 — 96.
- Welty R. E., Rennie W. J. 1985. ISTA Handbook on seed health testing. Working sheet No. 55: Grasses, Endophyte. International Seed Testing Association, Zurich, Switzerland: 1 — 4.
- Welty R. E., Azevedo M. D., Cook K. L. 1986. Detecting viable *Acremonium* endophytes in leaf sheaths and meristems of tall fescue and perennial ryegrass. *Plant Dis.* 70: 431 — 435.
- White J. F. Jr. 1987. Widespread distribution of endophytes in the *Poaceae*. *Plant Dis.* 71: 340 — 342.