

**MONIKA ŻUREK**<sup>1</sup>**BARBARA WIEWIÓRA**<sup>2</sup>**GRZEGORZ ŻUREK**<sup>3</sup><sup>1</sup> Zakład Genetyki i Hodowli Roślin, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — PIB<sup>2</sup> Zakład Nasiennictwa i Nasionoznawstwa, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — PIB<sup>3</sup> Zakład Traw, Roślin Motylkowatych i Energetycznych, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — PIB

## Występowanie grzybów endofitycznych na trwałych użytkach zielonych województwa mazowieckiego

### The occurrence of endophyte fungi on permanent grasslands in Mazovia region

Grzyby endofityczne z rodzaju *Neotyphodium* to organizmy zdolne do bezobjawowego zasiedlenia tkanek swoich gospodarzy, którymi są trawy. Do najczęściej zasiedlanych przez endofity gatunków traw należą: kostrzewa łąkowa (*Festuca pratensis* Huds.), k. trzciniowa (*F. arundinacea* Schreb.) oraz życica trwała (*Lolium perenne* L.). Celem pracy była ocena występowania grzybów endofitycznych w runi 31 trwałych użytków zielonych województwa mazowieckiego. Badania przeprowadzono na ekotypach należących do następujących gatunków (oprócz wymienionych powyżej): *Festuca rubra* L., *F. ovina* L., *F. capillata* L., *Lolium multiflorum*, *Poa pratensis* L., *P. nemoralis* L. i *Deschampsia caespitosa* (L.) P.B. Obecność grzybów z rodzaju *Neotyphodium* stwierdzono w ekotypach 5 gatunków traw: *F. pratensis*, *F. arundinacea*, *F. rubra*, *L. perenne* i *D. caespitosa*. Najwyższa częstotliwość zasiedlenia przez endofity wystąpiła w przypadku *F. pratensis* (62,9%). Ponadto stwierdzono zależność pomiędzy presją użytkową (koszenie, spasanie) występującą na danym użytku zielonym a częstotliwością zasiedlenia przez endofity.

**Słowa kluczowe:** gatunki traw, ekotypy, *Neotyphodium*, endofity, użytkowanie

Endophytic fungi from the genus *Neotyphodium* are able to cause asymptomatic infection in their grass hosts. Grass species that are most often infested by endophytes include meadow fescue (*Festuca pratensis* Huds.), tall fescue (*F. arundinacea* Schreb.) and perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). The aim of our study was to estimate the endophyte incidence in swards of 31 permanent grasslands in the Mazovia region. The study objects were ecotypes of the following species: *F. pratensis*, *F. arundinacea*, *F. rubra*, *F. ovina*, *F. capillata*, *Lolium perenne*, *L. multiflorum*, *Poa pratensis*, *P. nemoralis* and *Deschampsia caespitosa*. The presence of *Neotyphodium* fungi was related in the ecotypes of five grass species: *F. pratensis*, *F. arundinacea*, *F. rubra*, *L. perenne* and *D. caespitosa*. The highest frequency of endophyte infection was observed in *F. pratensis* (62.9%). Moreover, the relationship between a type of site usage (grazing or cutting) and the endophyte occurrence were found.

**Key words:** grass species, ecotypes, *Neotyphodium*, endophyte, usage

## WSTĘP

W Polsce trwałe użytki zielone zajmują powierzchnię ponad 3270000 ha, w tym na terenie województwa mazowieckiego znajduje się ok. 530000 ha, co stanowi 16% ogólnej powierzchni kraju (GUS, 2008). Powierzchnia województwa mazowieckiego wynosi 35557 km<sup>2</sup>, zaś użytki zielone (łąki i pastwiska) stanowią 14,9% jego powierzchni, przy średniej krajowej wynoszącej około 16,7%. Najważniejszymi z rolniczego i ekonomicznego punktu widzenia gatunkami traw występującymi w runi użytków zielonych są: życica trwała (*Lolium perenne* L.) oraz gatunki kostrzew: łąkowej (*Festuca pratensis* Huds.), czerwonej (*F. rubra* L.) i trzcinowej (*F. arundinacea* Schreb.) (Bony i Delatour, 2000). Gatunki te są równocześnie uważane za głównych gospodarzy grzybów endofitycznych (Latch i in., 1984; Gams i in., 1990; Morgan-Jones i Gams, 1982). Według systematyki, grzyby endofityczne zasiedlające trawy są zakwalifikowane do grzybów niedoskonałych rodzaju *Neotyphodium*, jednak prowadzone badania filogenetyczne wskazują na konieczność zmian w ich taksonomii (Leuchtmann i Schardl, 1998). Organizmy te żyją w przestrzeniach międzykomórkowych części wegetatywnych traw oraz w ich nasionach. Występują w roślinach bezobjawowo, najczęściej zasiedlając podstawę pochwy liściowej lub stożki wzrostu. Śladowe ilości endofitów znajdowano także w blaszkach liściowych oraz w korzeniach traw (Kemp i in., 2007). Do najbardziej powszechnych i najlepiej poznanych grzybów z rodzaju *Neotyphodium* należą: *N. coenophialum* Morgan-Jones & Gams, *N. uncinatum* Gams, Petroni & Schmidt, *N. lolii* Latch, Christensen & Samuels, oraz *N. typhinum* Morgan-Jones & Gams (Prończuk, 2005). Grzyby z rodzaju *Neotyphodium* określane są terminem „seed borne fungi”, ponieważ mają zdolność przenoszenia się z nasionami (White i Cole, 1986; White, 1987). Ich grzybnia zasiedla głównie warstwę aleuronową, ale jej rozmieszczenie w nasionach traw bywa różne. Zasiedlone ziarniaki nie posiadają widocznych objawów obecności tych grzybów (Wiewióra i Prończuk, 2006). Endofity mogą tworzyć ze swoimi gospodarzami zarówno układy pasożytnicze, jak i saprotroficzne (Prończuk, 2005). Grzyby endofityczne występujące na trawach czerpią korzyści pobierając składniki odżywcze, roślina stanowi dla nich schronienie, a także zyskują możliwość przenoszenia się do kolejnego pokolenia zainfekowanej rośliny poprzez nasiona (Müller i Kraus, 2005). Również zainfekowana roślina korzysta z obecności grzybni endofitycznej w swoich tkankach. Dotychczas udowodniono następujące pozytywne aspekty zasiedlania traw przez grzyby z rodzaju *Neotyphodium*:

- odporność na choroby grzybowe (Latch, 2007);
- większa odporność roślin zakażonych endofitami na stres suszy (jednakże cecha ta zależna jest od gatunku, odmiany i fazy rozwojowej, w jakiej znajduje się roślina) (Pańska i Żurek, 2005);
- lepsza zdolność do regeneracji uszkodzeń w wyniku suszy — ten korzystny aspekt obecności grzybów endofitycznych w trawach został najlepiej udokumentowany w przypadku kostrzewy trzcinowej (Hahn i in., 2007);
- większa żywotność siewek i lepsze krzewienie — potwierdziły to australijskie badania przeprowadzone w 1999 i 2000 roku nad życicą trwałą (Reed, 2002);

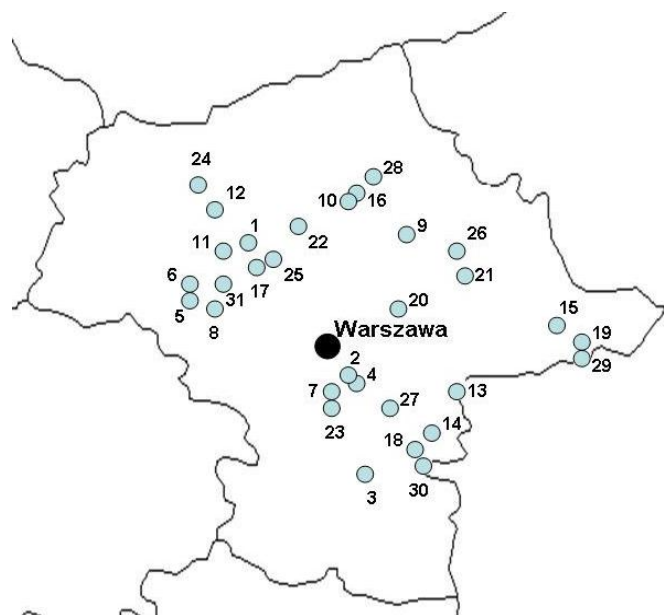
— odporność na insekty — dotychczas udokumentowano odporność zainfekowanych przez grzyby endofityczne traw na 45 gatunków owadów (Kuldau i Bacon, 2008).

Większość tych korzystnych cech wzbudzana jest w roślinach poprzez wytwarzane przez endofity alkaloidy i inne substancje. Jednak niektóre z tych alkaloidów są toksyczne i powodują stany chorobowe u zwierząt, a nawet mogą stanowić duże zagrożenie dla ich życia, np. alkaloid lolitrem B może powodować chorobę zwaną „ryegrass staggers syndrome”, a ergovalina — „fescue toxicosis”. Z punktu widzenia dobrostanu zwierząt, najbardziej korzystną formą karmienia zwierząt, jest spasanie ich na trwałych użytkach zielonych. Z tego względu należy mieć pewność, że uprawy te są wolne od grzybów endofitycznych, a co za tym idzie są bezpieczne dla spasnanych tam zwierząt gospodarskich.

Celem pracy jest ocena występowania grzybów z rodzaju *Neotyphodium* na trawach najczęściej występujących w runi trwałych użytków zielonych na terenie województwa mazowieckiego.

#### MATERIAŁ I METODY

W celu pozyskania ekotypów traw do badań, przeprowadzono 4 ekspedycje na przełomie czerwca i lipca 2008 r. w rejonie województwa mazowieckiego. W czasie ekspedycji zebrano następujące informacje na temat badanych siedlisk: koordynaty geograficzne wg wskazań GPS, wilgotność oraz typu gleby, warunki fizjograficzne. Rozmieszczenie badanych użytków zielonych przedstawia rysunek 1.



**Rys. 1. Rozmieszczenie stanowisk zbioru ekotypów traw (numery korespondują z numerami miejscowości w tabeli 1)**

**Fig. 1. Distribution of ecotype collection sites (numbers refer to site numbers in Table 1)**

Określono również szacunkowo procentowy udział traw ogółem oraz udział poszczególnych gatunków traw w runi na badanych stanowiskach. Typ użytkowania określano w oparciu o lustrację stanowisk. Stanowisko określano jako nie użytkowane, jeśli runi nie była skoszona bądź zgryziona, widoczne były kwiatostany traw oraz chwastów dwuliściennych jak również siewki drzew i krzewów. O koszeniu badanego stanowiska wnioskowano w oparciu o ślady tego zabiegu w runi, oraz ewentualnie pozostawione siano. Najbardziej ewidentnym dowodem na spasanie badanego stanowiska była obecność bydła na wypasie, ewentualnie ślady jego żerowania oraz grodzenia kwater. Z tak scharakteryzowanych stanowisk pobierano po 4–6 roślin w obrębie każdego z pozyskiwanych ekotypów. Przyjęto zasadę, iż z jednego stanowiska pozyskiwano tylko jeden ekotyp w obrębie każdego z występujących tam gatunków. Zebrane rośliny wysadzono na polu doświadczalnym Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie, w rozstawie 25 × 25 cm.

Obecność grzybów z rodzaju *Neotyphodium* w zebranych roślinach badanych ekotypów określano metodą barwieniową z wykorzystaniem różu bengalskiego według Saha i wsp. (1988). Standardowy roztwór barwiący zawierający 0,5% barwnika rozpuszczano w 5% roztworze wodnym alkoholu etylowego. Do wykonania preparatu, miękisz blaszki liściowej pozyskiwano z pochwy liściowej 10 losowo wybranych pędów każdej z badanych roślin, umieszczano na szkiełku podstawkowym w 1–2 kroplach standardowego roztworu barwiącego i wybarwiano przez 30–60 sekund. Obecność grzybni endofitów identyfikowano na wybarwionych preparatach, używając powiększenia 100× oraz 400×. Grzybnia endofitów w wybarwionych preparatach miała kolor różowy lub czerwony (rys. 2).



Rys. 2. Charakterystyczna grzybnia endofita przerastająca komórki liścia  
Fig. 2. A typical endophyte hyphae overgrown in leaf cells

- Na podstawie przeprowadzonych analiz laboratoryjnych określono:
- stopień zasiedlenia ekotypów (procentowy udział roślin, dla których stwierdzono obecność grzybni w co najmniej jednym z badanych pędów, w ogólnej liczbie roślin przypadających na badany ekotyp);
  - frekwencję zasiedlenia badanych gatunków traw przez endofity (procentowy udział ekotypów zasiedlonych w łącznej liczbie pozyskanych);
  - zasiedlenie średnie dla gatunków i miejscowości (średnia wartość zasiedlenia dla pozyskanych ekotypów) oraz dla typu użytkowania.

## WYNIKI I DYSKUSJA

Ekotypy traw pozyskano z 31 trwałych użytków zielonych. Badane stanowiska położone były na równinach wzdłuż dróg, rzek, pod lasami lub obok pól uprawnych. Były to głównie łąki, które stanowiły 87% wszystkich użytków zielonych, zaś pozostałe 13% to pastwiska i nieużytki. Dominującym typem użytkowania było spaszanie (42% stanowisk), zaś pozostałe stanowiska były koszone (29%) lub nie były w ogóle użytkowane (29%). Większość (68%) badanych użytków zielonych charakteryzowała się średnią wilgotnością podłoża. Na badanych siedliskach występowały trzy rodzaje podłoża: mineralno-organiczne (52% stanowisk), organiczne (32%) oraz mineralne (16%) (tab. 1).

Tabela 1

**Wykaz stanowisk zbioru oraz ich podstawowe charakterystyki**  
**List of ecotype collection sites and its basic characteristics**

L.p No.	Nazwa miejscowości Name of locality	Ogólny opis siedliska zbioru General description of collection site	Typ użytkowania Type of usage	Wilgotność podłoża Soil moisture	Rodzaj gleby Type of soil
1	2	3	4	5	6
1	Borkowo	łąka pod lasem meadow near the forest	spaszanie grazed	średnia medium	mineralne mineral
2	Brzezinka	łąka meadow	nie użytkowane not used	wysoka high	mineralno-organiczne min.- organic
3	Brzoza	łąka wzdłuż drogi meadow near the road	spaszanie grazed	średnia medium	mineralno-organiczne min.-organic
4	Całowanie	pastwisko dla koni pasture for horses	spaszanie grazed	wysoka high	organiczne organic
5	Famułki Brochowickie	łąka wzdłuż drogi meadow near the road	nie użytkowane not used	niska low	mineralno-organiczne min.- organic
6	Gorzewnica	łąka nad rzeką meadow near the river	spaszanie grazed	średnia medium	mineralno-organiczne min.- organic
7	Góra Kalwaria	łąka nad rzeką meadow near the river	koszenie cut	średnia medium	mineralno-organiczne min.- organic
8	Granica	łąka pod lasem meadow near the forest	koszenie cut	średnia medium	mineralno-organiczne min.- organic
9	Gwizdały	łąka wzdłuż drogi meadow near the road	nie użytkowane not used	średnia medium	organiczne organic
10	Józefowo	łąka meadow	koszenie cut	niska low	mineralne mineral

1	2	3	4	5	6
11	Koliszewo	łąka wzdłuż drogi meadow near the road	spasanie grazed	średnia medium	mineralno-organiczne min.- organic
12	Luszewo	łąka wzdłuż drogi meadow near the road	spasanie grazed	średnia medium	organiczne organic
13	Łopacianka	łąka wzdłuż drogi meadow near the road	koszenie cut	średnia medium	mineralno-organiczne min.-organic
14	Milanów	łąka wzdłuż drogi meadow near the road	nie użytkowane not used	średnia medium	organiczne organic
15	Mordy-Pieńki	łąka obok pola uprawnego meadow by the arable field	koszenie cut	średnia medium	mineralno-organiczne min.-organic
16	Nowy Gródek	łąka meadow	spasanie grazed	niska low	mineralne mineral
17	Okunin	łąka nad rzeką meadow near the river	nie użytkowane not used	niska low	mineralne mineral
18	Oronne	łąka wzdłuż drogi meadow near the road	spasanie grazed	średnia medium	organiczne organic
19	Ostoje	łąka wzdłuż drogi meadow near the road	koszenie cut	średnia medium	organiczne organic
20	Ostrówek	łąka meadow	nie użytkowane not used	niska low	mineralne mineral
21	Pierzchały	łąka pod lasem meadow near the forest	spasanie grazed	średnia medium	organiczne organic
22	Piskornia	łąka wzdłuż drogi meadow near the road	spasanie grazed	niska low	mineralno-organiczne min.- organic
23	Podosowa	łąka meadow	spasanie grazed	niska low	mineralno-organiczne min.- organic
24	Radzimowice- Starogrody	łąka wzdłuż drogi meadow near the road	koszenie cut	średnia medium	organiczne organic
25	Sikory	łąka pod lasem meadow near the forest	nie użytkowane not used	średnia medium	mineralno-organiczne / min.- organic
26	Stara Wieś	łąka wzdłuż drogi meadow near the road	nie użytkowane not used	średnia medium	organiczne organic
27	Stoczek	nieużytki wzdłuż drogi wasteland by the road	nie użytkowane not used	niska low	mineralno-organiczne min.-organic
28	Szarłat	las mieszany nad rzeką mixed forest by the river	spasanie grazed	średnia medium	mineralno-organiczne min.-organic
29	Tęczki	łąka wzdłuż drogi meadow near the road	koszenie cut	średnia medium	organiczne organic
30	Tyrzyn	łąka wzdłuż drogi meadow near the road	koszenie cut	średnia medium	mineralno-organiczne min.-organic
31	Wilków Polski	pastwisko dla koni pasture for horses	spasanie grazed	średnia medium	mineralno-organiczne min.-organic

Ogółem w czasie ekspedycji zgromadzono 121 ekotypów w następujących gatunkach: *Festuca rubra* – 30 ekotypów, *Lolium perenne* – 26, *F. pratensis* i *Deschampsia caespitosa* – po 24, *L. multiflorum*, *F. arundinacea* i *F. ovina* – po 4, *F. capillata* i *Poa pratensis* – po 2, *P. nemoralis* – 1.

W trakcie pobierania roślin z badanych stanowisk określono również procentowy udział w runi występujących na nich gatunków traw. Stwierdzono, że trawy stanowiły ogółem od 60 (Ostrówek) do 97% (Tyrzyn) wszystkich występujących gatunków roślin, a jedynie w przypadku miejscowości Podosowa było ich ok. 16% (tab. 2). W runi wszystkich badanych

stanowisk stwierdzono występowanie *Festuca rubra*. Średni udział tego gatunku wynosił 22,3% i zawierał się w przedziale od 1 (Podosowa i Józefowo) do 78% (Radzimowice - Starogrody). Na 26 stanowiskach stwierdzono oprócz tego występowanie *Lolium perenne* (udział w runi średnio 13,1%, od 0 do 70%), a na 24 stanowiskach — *Deschampsia caespitosa* (odpowiednio, 19,9% od 0 do 70%) oraz *Festuca pratensis* (7,6%, od 0 do 20%). Pozostałe gatunki występowały na kilku stanowiskach (*Lolium multiflorum*, *Festuca ovina*, *F. arundinacea*) lub tylko na jednym — *Poa nemoralis* (tab. 2).

Tabela 2

**Udział poszczególnych gatunków traw w runi badanych stanowisk**  
**Share of grass species in swards on examined localities**

Nazwa miejscowości Name of locality	Udział w runi: Share in sward:		Udział gatunków traw w runi Share of grass species in sward									
	trawy grasses	gatunki inne other species	<i>Lolium perenne</i>	<i>Lolium multi- florum</i>	<i>Festuca pratensis</i>	<i>Festuca rubra</i>	<i>Festuca arundin- acea</i>	<i>Festuca capi- llata</i>	<i>Festuca ovina</i>	<i>Poa pratensis</i>	<i>Poa nemo- ralis</i>	<i>Descham- psia caespitosa</i>
Borkowo	95	5	40	10		5						
Brzezinka	80	20	10		10	30						15
Brzoza	95	5	5	5		25				5		10
Całowanie	70	30	10	10	5	20						10
Famułki												
Brochowickie	90	10				55				10		< 1
Gorzewnica	85	15	10		5	15				5		15
Góra Kalwaria	80	20			15	35			< 1			
Granica	95	5	5		5	35	5				< 1	30
Gwizdały	85	15	5		5	50						10
Józefowo	85	20	20	10	10	1	20					5
Koliszewo	90	10	70		5	10						
Luszewo	95	5	5	10	5	5			< 1			
Łopacianka	95	5	20		< 1	10						15
Milanów	80	20				30	15					20
Mordy-Pieńki	90	10	2		5	43						
Nowy Gródek	95	5	30		10	20						10
Okunin	95	5	5		5	70				10		< 1
Oronne	95	5	10			20				5		35
Ostoje	90	10	5		5	10	20					10
Ostrówek	60	40				15			25			
Pierzchały	90	10	2		5	12			< 1			70
Piskornia	90	10	30	20	10	5						10
Podosowa	16	84	1		< 1	1						5
Radzimowice- Starogrody	95		5		1	78			< 1			< 1
Sikory	90	10	5		5	10						60
Stara Wieś	85	15	5		20	10						20
Stoczek	80	20				10			< 1			
Szarłat	80	20	20		5	25				15		10
Tęczki	95	5	5		20	20						25
Tyrzyn	97	3	10		5	5						65
Wilków Polski	95	5	5		20	10						5
Średnio dla gatunków Mean for species	85,7	14,7	13,1	10,8	7,6	22,3	15,0	<1	6,9	8,3	<1	19,9

**Zasiedlenia ekotypów badanych gatunków traw przez endofity**  
**Colonization of ecotypes of the examined grass species by endophytes**

Miejscowość Locality	Częstotliwość zasiedlania traw przez endofity w badanych miejscowościach: Frequency of grass colonization by endophytes in examined localities:										średnio dla miejscowości mean for localities
	<i>Deschampsia caespitosa</i>	<i>Festuca arundinacea</i>	<i>F. capitata</i>	<i>F. ovina</i>	<i>F. pratensis</i>	<i>F. rubra</i>	<i>Lolium multiflorum</i>	<i>L. perenne</i>	<i>Poa nemoralis</i>	<i>P. pratensis</i>	
Borkowo						14,3	0,0	33,3			15,9
Brzezinka	33,3				100,0	0,0		33,3			41,7
Brzoza	0,0					0,0	0,0	33,3		0,0	6,7
Całowanie	0,0				100,0	0,0	0,0	0,0			20,0
Famułki Brochowickie	0,0					0,0					0,0
Gorzewnica	0,0				80,0	0,0		20,0			25,0
Góra Kalwaria				0,0	100,0	33,3					44,4
Granica	0,0	50,0			50,0	0,0		0,0	0,0		16,7
Gwizdały	0,0				66,7	0,0		0,0			16,7
Józefowo	0,0	0,0			0,0	0,0	0,0	0,0			0,0
Koliszewo					100,0	0,0		0,0			33,3
Luszewo	0,0		0,0		66,7	20,0		0,0			17,3
Łopacianka	0,0				0,0	50,0		0,0			12,5
Milanów	0,0	0,0				0,0					0,0
Mordy-Pieńki					66,7	33,3		33,3			44,4
Nowy Gródek	0,0				100,0	0,0		0,0			25,0
Okunin	0,0					0,0		66,7			22,2
Oronne	25,0					33,3		100,0		0,0	39,6
Ostoje	0,0	0,0			50,0	0,0		0,0			10,0
Ostrówek				0,0		0,0					0,0
Pierzchały	0,0		0,0		100,0	0,0		66,7			33,3
Piskornia	0,0				33,3	0,0		0,0			8,3
Podosowa	0,0				0,0	0,0		0,0			0,0
Radzimowice- Starogrody	0,0			0,0	66,7	0,0		33,3			20,0
Sikory	0,0				0,0	0,0		0,0			0,0
Stara Wieś	0,0				100,0	0,0		0,0			25,0
Stoczek				0,0		0,0					0,0
Szarłat	0,0				66,7	25,0		33,3			31,3
Tęczki	0,0				66,7	33,3		33,3			33,3
Tyrzyn	0,0				100,0	0,0		0,0			25,0
Wilków Polski	0,0				33,3	100,0		0,0			33,3
Frekwencja zasiedlenia Colonization frequency	8,0	25,0	0,0	0,0	82,6	42,9	0,0	42,3	0,0	0,0	77,4
Średnie zasiedlenie Average colonization	2,3	12,5	0,0	0,0	62,9	11,0	0,0	18,7	0,0	0,0	21,2

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono całkowity brak obecności grzybów endofitycznych z rodzaju *Neotyphodium* w ekotypach pobranych z 7 miejsc (Podosowa, Stoczek, Milanów, Ostrówek, Famułki Brochowickie, Sikory oraz Józefowo). Średnie



procentowe zasiedlenie ekotypów na pozostałych stanowiskach wynosiło 21,2% i wahało się od 6,7% (Brzoza) do 44,4% (Góra Kalwaria) (tab. 3).

Pod względem gatunkowym, obecność endofitów z rodzaju *Neotyphodium* stwierdzono w: *Lolium perenne*, *Festuca pratensis*, *F. rubra*, *F. arundinacea* i *Deschampsia caespitosa*. W przypadku pozostałych gatunków (*Festuca ovina*, *Lolium multiflorum*, *F. capillata*, *Poa pratensis*, *P. nemoralis*) nie wykryto obecności grzybni endofitycznej. Najczęściej oraz najintensywniej zasiedlanym gatunkiem traw była *Festuca pratensis* (frekwencja zasiedlenia 82,6%, średnie zasiedlenie 62,9%). Znacznie rzadziej i mniej intensywnie zasiedlane były ekotypy *Lolium perenne* (frekwencja – 42,3%, średnie zasiedlenie 18,7%), *Festuca rubra* (odpowiednio, 42,9% i 11,0%), *F. arundinacea* (25% i 12,5%) oraz *Deschampsia caespitosa* (8% i 2,3%) (tab. 3).

Krajowe badania nad występowaniem endofitów traw są nieliczne, jednakże potwierdzają obecność grzybów endofitycznych w rodzimych ekotypach większości wymienionych wyżej gatunków traw (Wiewióra i in., 2006; Pańka i Żurek, 2005, 2008). Zbliżone wartości zasiedlenia traw przez endofity stwierdzono również w badaniach Pańki i Żurka (2008) nad nasionami pochodzącymi z różnych regionów kraju (*F. pratensis* — 93%, *F. rubra* — 63% oraz *L. perenne* — 60%). Krajowe doniesienia dotyczące zasiedlenia *D. caespitosa* określają je na poziomie 5–20% (w ziarniakach) (Wiewióra i Prończuk, 2006). Zasiedlenie tego gatunku przez endofity na poziomie 20% potwierdziły badania przeprowadzone w Finlandii przez Wäli i wsp. (2000).

Tabela 4

**Zasiedlenie ekotypów traw w zależności od gatunku oraz typu użytkowania**  
**Endophyte incidence in relation to grass species and type of usage**

Typ użytkowania Type of usage	Rodzaj, gatunek Genus, species	Zasiedlenie ekotypów przez endofity: Colonization of ecotypes by endophytes :	
		frekwencja — frequency	zasiedlenie średnie — average colonization
Nieużytkowane Not used	<i>Lolium perenne</i>	20,0	20,0
	<i>Festuca pratensis</i>	75,0	66,7
	<i>Festuca rubra</i>	0,0	0,0
	<i>Festuca arundinacea</i>	0,0	0,0
	<i>Deschampsia caespitosa</i>	14,3	4,8
Średnia dla typu użytkowania — mean for usage type		21,9	18,3
Koszenie Cutting	<i>Lolium perenne</i>	37,5	12,5
	<i>Festuca pratensis</i>	77,8	55,6
	<i>Festuca rubra</i>	44,4	16,7
	<i>Festuca arundinacea</i>	33,3	16,7
	<i>Deschampsia caespitosa</i>	0,0	0,0
Średnia dla typu użytkowania — mean for usage type		38,6	20,3
Spasanie Grazing	<i>Lolium perenne</i>	46,2	22,0
	<i>Festuca pratensis</i>	90,0	68,0
	<i>Festuca rubra</i>	38,5	14,8
	<i>Festuca arundinacea</i>	0,0	0,0
	<i>Deschampsia caespitosa</i>	9,1	2,3
Średnia dla typu użytkowania — mean for usage type		36,8	21,4
NIR (P = 95%) dla średnich dla typu użytkowania		43,53	35,54
LSD (P = 95%) for mean for usage types			

Analizując uzyskane w pracy wyniki zaobserwowano także, że częstotliwość występowania endofitów była związana z charakterem użytkowania badanych siedlisk (tab. 4).

Endofity występowały na większości stanowisk poddanych presji użytkowej, tzn. koszonych lub spaszanych (odpowiednio od 90 do 92,3% stanowisk) oraz jedynie na 37% stanowisk zakwalifikowanych jako nie użytkowane. Wyniki te potwierdzają badania przeprowadzone przez innych autorów (Gwinn i in., 1998; Jensen i Roulund, 2004), które wykazały zależność między zasiedleniem pastwiska przez endofity, a typem użytkowania. Na pastwiskach intensywnie wypaszanych występowało wyższe zasiedlenie przez grzyby endofityczne. W niniejszym badaniu na stanowiskach nie użytkowanych nie stwierdzono zasiedlenia przez endofity ekotypów *Festuca rubra* i *F. arundinacea*. Pomimo braku istotnych statystycznie różnic we frekwencji zasiedlenia ekotypów przez endofity oraz średniego zasiedlenia w obrębie typów użytkowania, stwierdzono iż frekwencja zasiedlenia ekotypów *Lolium perenne* oraz *Festuca pratensis* wzrastała w miarę domniemanego wzrostu natężenia presji użytkowej (tab. 4).

#### WNIOSKI

1. Obecność grzybów endofitycznych stwierdzono w ekotypach głównych gatunków traw pastewnych (*Lolium perenne*, *Festuca pratensis*, *F. rubra*, *F. arundinacea*) jak i w gatunku uważanym z uporczywy chwast łąkowy — *Deschampsia caespitosa*.
2. Badane gatunki traw różnią się intensywnością zasiedlenia przez grzyby endofityczne. Największe zasiedlenie stwierdzono w przypadku *F. pratensis*, zaś najniższe w przypadku *D. caespitosa*.
3. W zdecydowanej większości badanych stanowisk, obok gatunków traw pastewnych zasiedlonych przez endofity znajdowano gatunki wolne on nich. Świadczyć to może o selektywnym zasiedlaniu gatunków, niekoniecznie związanym z presją użytkową na danym stanowisku.
4. Intensywność presji użytkowej (spasanie, koszenie) ma wpływ na częstotliwość występowania endofitów w runi użytków zielonych oraz może sprzyjać pojawianiu się endofitów w takich gatunkach jak np. *Festuca rubra*, co może prowadzić do wzrostu zagrożenia dla zdrowia zwierząt ze strony toksyn produkowanych przez grzyby endofityczne. Zależność między intensywnością użytkowania pastwiska a obecnością endofitów wymaga dalszych badań.

#### LITERATURA

- Bony S., Delatour P. 2000. Relevance and impact of grass endophyte toxins in Europe. Proceedings of the 4<sup>th</sup> International *Neotyphodium*/Grass Interaction Symposium: 207 — 218.
- Gams, W., Petrini, O., Schmidt D. 1990. *Acremonium uncinatum*, a new endophyte in *Festuca pratensis*. Mycotaxon 37: 67 — 71.
- Główny Urząd Statystyczny. 2008. Produkcja upraw rolnych i ogrodniczych w 2007 r., Wydawnictwa Statystyczne, Warszawa.

- Gwinn K. D., Fribourg H. A., Waller J. C., Saxton A. M., Smith M. C. 1998. Changes in *Neotyphodium coenophialum* infestation levels in tall fescue pastures due to different grazing pastures. *Crop Science* 38: 201 — 204.
- Hahn H., McManus M. T., Warnstorff K., Monahan B. J., Young C. A., Davies E., Tapper B. A., Scott B. 2007. *Neotyphodium* fungal endophytes confer physiological protection to *perennial ryegrass* (*Lolium perenne* L.) subjected to water deficit. *Environmental and Experimental Botany* 63: 183 — 199.
- Jensen A. M. D., Roulund N. 2004. Occurrence of *Neotyphodium endophytes* in permanent grassland with perennial ryegrass (*Lolium perenne*) in Denmark. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 104: 419 — 427.
- Kemp H., Bourke Ch., Wheatley W. 2007. Endophytes of perennial ryegrass and tall fescue. [www.dpi.nsw.gov.au](http://www.dpi.nsw.gov.au).
- Kuldau G., Bacon C. 2008. *Clavicipitaceous endophytes*: their ability to enhance resistance of grasses to multiple stresses. *Biological Control* 46: 57 — 71.
- Latch G. C. .M. 2007. Diseases and endophytes. [http://cropandsoil.oregonstate.edu/sites/default/files/people/hannaway/FINAL\\_08\\_Diseases\\_6\\_oct\\_08\\_NM.doc](http://cropandsoil.oregonstate.edu/sites/default/files/people/hannaway/FINAL_08_Diseases_6_oct_08_NM.doc).
- Latch G. C. M., Christensen M. J., Samuels G. J. 1984. Five endophytes of *Lolium* and *Festuca* in New Zealand. *Mycotaxon*. 20:535 — 550.
- Leuchtmann A., Scharl C. L. 1998. Mating compatibility and phylogenetic relationship among two new species of *Epichloë* and other congeneric European species. *Mycol. Res.* 102: 1169 — 1182.
- Morgan-Jones G., Gams W. 1982. Notes on *Hyphomycetes*. XLI. An endophyte of *Festuca arundinacea* and the anamorphic of *Epichloe typhina*, new taxa in one of two new sections of *Acremonium*. *Mycotaxon*. 15: 311 — 318.
- Müller Ch. B., Krauss J. 2005. Symbiosis between grasses and asexual fungal endophytes. *Current Opinion in Plant Biology* 8: 450 — 456.
- Pańska D., Żurek G. 2005. Występowanie grzybów endofitycznych na trawach gazonowych a ich podatność na stres suszy. *Łąkarstwo w Polsce*, 8: 1 — 7.
- Pańska D., Żurek G. 2008. Zasiadlenie kolekcji nasion ekotypów traw z rodzaju *Festuca* i *Lolium* przez endofity z rodzaju *Neotyphodium* i *Epichloe*. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 529: 131 — 137.
- Prończuk M. 2005. Endofity traw — znaczenie, występowanie i metody wykrywania. Przegląd literatury. *Biul. IHAR* 235: 297 — 309.
- Reed K. 2002. The significance of the ryegrass endophyte, *Neotyphodium lolii*. In: *Victorian pasture*. [www.animal-welfare.org.au/comm/download/abs02.html](http://www.animal-welfare.org.au/comm/download/abs02.html).
- Saha D. C., Jackson M. A., Johnson-Cicalese J. M. 1988. A rapid staining method for detection of endophyte fungi in turf and forage grasses. *The American Phytopathological Society*, No. 2, Vol. 78: 237 — 239.
- Wäli P., Saikkonen K., Helander M., Lehtimäki S., Lehtonen P. 2000. Seed transmitted endophytic fungi in wild grass populations in Finland. *Proceedings of the 4<sup>th</sup> International Neotyphodium/Grass Interaction Symposium*: 93 — 96.
- White J. F. Jr. 1987. Widespread distribution of endophytes in the *Poaceae*. *Plant Dis.* 71: 340 — 342.
- White J. F. Jr., Cole, G. T. 1986. Endophyte — host associations in forage grasses. V. Occurrence of fungal endophytes in certain species of *Bromus* and *Poa*. *Mycologia* 78: 846 — 850.
- Wiewióra B., Prończuk M. 2006. Porównanie metody mikroskopowej i immunologicznej do wykrywania grzybów endofitycznych w nasionach traw. *Biul. IHAR* 242: 277 — 284.
- Wiewióra B., Prończuk M., Ostrowska A. 2006. Infekcja nasion traw przez endofity w kolejnych latach użytkowania plantacji. *Biul. IHAR* 242: 285 — 293.