

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Učitelství chemie a biologie se zaměřením na vzdělávání



**Barbora Koudelková**

**Endofytní houby v nadzemních pletivech rostlin z čeledi Ericaceae**

Endophytic fungi in above-ground tissues of plants of the family Ericaceae

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Ondřej Koukol, Ph.D.

Praha, 2012

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 9. 5. 2012

Barbora Koudelková

## **Poděkování**

Chtěla bych poděkovat svému školiteli Mgr. Ondřeji Koukolovi, Ph.D., který mi doporučil množství zajímavé literatury, a dal řadu užitečných rad a připomínek, které mi pomohly zpracovat tuto práci.

## Obsah

Poděkování.....	2
Abstrakt.....	4
Abstract.....	4
1. Úvod.....	5
2. Charakteristika čeledi Ericaceae .....	6
2.1. Erikoidní mykorhiza a DSE.....	7
3. Endofytické houby .....	8
4. Houby na zástupcích čeledi Ericaceae .....	10
4.1. Diverzitní studie endofytů .....	10
4.2. Taxonomické práce .....	12
4.3. Saprotrofní a nekrotrofně parazitické houby .....	14
4.4. Překryv druhů mezi hostitelskými rostlinami .....	15
5. Metodické přístupy ke studiu endofytních hub v Ericaceae .....	17
5.1. Izolace.....	17
5.2. Identifikace hub.....	18
6. Výhled na DP .....	19
7. Závěr.....	20
8. Seznam použité literatury .....	21

## **Abstrakt**

Endofytickým houbám se věnuje mnoho studií, nadzemní pletiva rostlin z čeledi Ericaceae však z tohoto hlediska příliš prozkoumána nejsou, většina literatury se věnuje především houbám tvořícím erikoidní mykorhizu. Tato bakalářská práce shrnuje studie diverzity endofytických hub v této čeledi, porovnává četnost a překryv hub v různých hostitelských rostlinách a geografických oblastech a také výskyt hub v živých a mrtvých pletivech rostlin. Důraz je kladen také na metodiku izolace a určování endofytických hub.

**Klíčová slova:** izolace, biodiverzita, species-pool, hostitelská preference

## **Abstract**

Many studies focus on endophytic fungi. However, above-ground tissues of plants of the family Ericaceae are not largely examined. Most of the literature concerns the fungi forming ericoid mycorrhiza. This bachelor thesis sums up the diversity studies of the endophytic fungi in the family Ericaceae, compares the frequency and the overlap of fungi in different host plants and geographical regions and also the occurrence of fungi in living and dead plant tissues. The methods of fungal isolation and identification are accentuated.

**Key words:** isolation, biodiversity, species-pool, host preference

## 1. Úvod

Endofytické houby jsou organismy, které kolonizují pletiva živých rostlin, přičemž na hostitelské rostlině nezpůsobují viditelné projevy (Carroll, 1988). Dosud byly studovány na řadě dřevin a bylin, včetně bezcévných rostlin.

Čeleď Ericaceae je kosmopolitně rozšířená, pro její zástupce je charakteristická kolonizace kyselých, na živiny chudých stanovišť (Stevens 2001). Rostliny z této čeledi jsou prozkoumány hlavně z hlediska hub tvořících erikoidní mykorhizu, která je klíčová pro jejich přežití. Naproti tomu endofytickým houbám v nadzemních pletivech se věnuje pouze několik studií.

Cílem této práce je přehled studií zabývajících se diverzitou endofytických hub a dalších prací, které se zabývají například taxonomickými novinkami mezi endofyty izolovanými ze zástupců čeledi Ericaceae. Práce dále srovnává dominantní houby v různých druzích hostitelských rostlin a geografických oblastech. V neposlední řadě jsou zmíněny i práce týkající se saprotrofních a parazitických druhů hub. Vzhledem k tomu, že na tuto bakalářskou práci bude navazovat diplomová práce s praktickou částí, věnovala jsem se také metodice izolace a morfologických a molekulárních metod určování endofytických hub.

## 2. Charakteristika čeledi Ericaceae

Čeď Ericaceae zahrnuje stálezelené nebo opadavé keře, liány, stromy nebo byliny, které v některých případech nemají chlorofyl. Listy jsou střídavé nebo přeslenité, celistvé nebo pilovité s výrazně podvinutými okraji, často jehlicovité, nemají palisty. Cévní svazky mají často vláknitou pochvu. Pupy jsou chráněny dvěma nebo více šupinami, nebo jsou nahé. Květenství jsou terminální nebo úžlabní, často hroznovitá, s různě vyvinutými listeny a obvykle dvěma listenci. Květy mohou být převislé nebo vzpřímené, 4-5četné, aktinomorfni nebo zygomorfni. Typické jsou zvonkovité, cylindrické nebo čiřkovité květy. Obvykle mají 4-5 kaliřních lířtků. Mají 5-10 tyčinek. Semeník je svrchní nebo spodní. Plodem je nejčastěji tobolka, bobule nebo peckovice (Kron et al., 2002)

Ericaceae nejčastěji nacházíme na otevřených, více či méně kyselých stanoviřtích, v teplém i chladném prostředí, největří diverzita je ve středomoří, v horách jihovýchodní Asie a v tropické Americe (Stevens 2001).

Čeď Ericaceae zahrnuje 8 podčeďdí: Enkianthoideae, Monotropeoideae, Arbutoideae, Cassiopoideae, Ericoideae, Harrimanelloideae, Styphelioideae, Vaccinioideae (Kron et al., 2002).

Podčeď Enkianthoideae pochází z Asie. Zahrnuje stálezelené nebo opadavé křoviny, patří sem rod *Enkianthus*.

Monotropeoideae jsou stálezelené byliny nebo keře (např. rody *Pyrola*, *Chimaphila*, *Moneses*, *Orthilia*), ale také nezelené mykotrofní rostliny (např. rody *Monotropa*, *Allotropa*, *Pterospora*, *Sarcodes*). Jsou rozřířené v Severní Americe, Evropě a Asii.

Arbutoideae jsou obvykle stálezelené stromy nebo křoviny, patří sem např. rody *Arbutus*, *Arctostaphylos*. Jsou původní ve středomoří, západní Evropě a Severní Americe.

Pro Cassiopoideae jsou typická chladná stanoviřtě, vyskytují se v Kanadě a na severu Asie. Jsou to stálezelené nízké keře, patří sem rod *Cassiope*.

Ericoideae jsou stálezelené nebo opadavé stromy nebo keře, patří sem např. rody *Erica*, *Ceratiola*, *Calluna*, *Empetrum*, *Bajaria*, *Ledothamnus*, *Phyllodoce*, *Kalmia*, *Rhodothamnus*, *Rhododendron*, *Menziesia*. Jsou rozřířené téměř po celém světě.

Harrimanelloideae tvoří husté porosty keřů, rozřířené jsou hlavně v Severní Americe. Patří sem rod *Harrimanella*.

Styphelioideae jsou stálezelené křoviny, malé stromy nebo liány s výskytem hlavně v Austrálii. Patří sem např. rody *Epacris*, *Woolsia*, *Styphelia*.

Vaccinioideae jsou stálezelené nebo opadavé stromy, keře, liány. Rostou často epifyticky. Rozšířené jsou téměř po celém světě. Patří sem např. rody *Oxydendrum*, *Lyonia*, *Pieris*, *Andromeda*, *Gaultheria*, *Leucothoe*, *Vaccinium* (Kron et al., 2002).

## 2.1. Erikoidní mykorhiza a DSE

Pro čeleď Ericaceae je charakteristická erikoidní mykorhiza, kdy rostlina pomocí mykorhizní houby získává dusík a fosfor (Cairney a Ashford, 2002) a houba z hostitele získává uhlík (Stribley a Read, 1974). Tato spolupráce je pravděpodobně jedním z důvodů, proč je tato čeleď úspěšná na kyselých stanovištích extrémně chudých na živiny (Stevens 2001). Mykorhizní houby mohou regulovat také přísun některých kovů, například železa, mědi nebo zinku do hostitele (Mitchell a Gibson, 2006). Některé organické kyseliny v půdě vřesovišť jsou pro rostliny toxické a erikoidní mykorhiza je schopná redukovat toxicitu těchto látek (Cairney a Ashford, 2002).

Pro kořenový systém rostlin tvořících erikoidní mykorhizu jsou charakteristické vláscité kořeny a kořenové vlásky, na kterých se erikoidní mykorhiza tvoří (Cairney a Ashford, 2002).

Mezi běžné mykorhizní houby čeledi Ericaceae na severní polokouli patří askomycet *Pezoloma ericae* z čeledi Helotiaceae. Častěji se však v literatuře vyskytuje pod staršími názvy *Hymenoscyphus ericae*, *Rhizoscyphus ericae* nebo *Pezizella ericae*. Jméno *Pezoloma ericae* je ale v současnosti platné jméno tohoto druhu (Baral a Krieglsteiner, 2006). Dalšími druhy tvořícími erikoidní mykorhizu jsou anamorfní rod *Oidiodendron* z čeledi Myxotrichaceae (Couture a Fortin, 1983) a anamorfní druhy *Scytalidium vaccinii* a *Cadophora finlandica* (Mitchell a Gibson, 2006).

Jako DSE („Dark Septate Endophytes“) se označuje skupina endofytických hub charakterizovaná výskytem v kořenech rostlin a hyfami s tmavými melanizovanými přepážkami (Rodriguez et al., 2009). Na kořeny rostlin pravděpodobně nemají žádný negativní ani pozitivní vliv, jejich ekologická role není zatím příliš jasná. DSE jsou ubikvitní skupinou hub, byly zaznamenány ve více než 600 druzích rostlin ze 110 čeledí. Někteří zástupci této skupiny jsou dominantní v boreálních lesích, na vřesovištích a v alpínských ekosystémech, jsou tedy charakterističtí pro jehličnany a rostliny z čeledi Ericaceae. Jedná se hlavně o anamorfní druh *Phialocephala fortinii* z čeledi Helotiaceae a jemu příbuzný druh *Acephala aplanata* (Grünig et al., 2008). Mimo houby tvořící erikoidní mykorhizu a DSE se v kořenech rostlin z čeledi Ericaceae vyskytuje ještě množství dalších hub s neznámou ekologickou funkcí (Kjøller et al., 2010)



### 3. Endofytické houby

Endofytické houby jsou druhy, které kolonizují pletiva živých rostlin, aniž by v daném okamžiku způsobovaly zjevné symptomy kolonizace (Aly et al., 2011; Carroll, 1988). Někteří endofyté mohou chránit svého hostitele proti jeho přirozeným nepřátelům (např. herbivorům) produkcí mykotoxinů (Carroll, 1988). Je zřejmé, že některé endofytické houby mohou později přejít k saprotrofnímu nebo parazitickému způsobu života (Aly et al., 2011; Rodriguez et al., 2009).

Rodriguez et al. (2009) rozděluje endofyty podle evoluční příbuznosti, taxonomie, hostitelských rostlin a ekologických funkcí do čtyř hlavních skupin. Do první skupiny patří endofyté trav, kteří se vyznačují úzkým a specifickým rozsahem hostitelů, systémovou infekcí celého hostitele a vertikálním šířením. Ostatní endofyté jsou vysoce diverzifikovanou polyfyletickou skupinou, kterou lze dále rozdělit na tři podskupiny. Já se budu dále zabývat pouze skupinou III („class III“), která je charakterizována výskytem v nadzemních částech rostlin, horizontálním šířením a tvorbou malých ložisek kolonizace hostitele. Diverzita endofytů z této skupiny v pletivu hostitelské rostliny může být velmi vysoká (Arnold et al., 2003).

Pro jednotlivé houby se velmi liší rozsah hostitelů. Existují houby, které najdeme téměř ve všech hlavních fylogenetických liniích suchozemských hostitelských rostlin, například rody *Cryptocline*, *Cryptosporiopsis*, *Leptostroma*, *Phomopsis*, *Phyllosticta*, jiné houby mohou být velmi hostitelsky specifické (Carroll, 1988; Rodriguez et al., 2009).

Endofytní houby se vyskytují ve všech zeměpisných šířkách od tropů až po tundru a také jejich diverzita závisí na zeměpisné šířce. V chladnějších oblastech se vyskytuje relativně málo druhů z velkého množství skupin askomycetů. V tropických oblastech se potom vyskytuje málo čeledí, ale velké množství druhů endofytických hub (Arnold a Lutzoni, 2007).

Dle Rodrigueze et al. (2009) mohou být endofytické houby latentními patogeny, ale přechod k saprotrofnímu způsobu života je méně pravděpodobný. Naproti tomu Osono a Hirose (2009) podali přehled prací, které se zabývaly přechodem endofytických hub k saprotrofnímu způsobu výživy a jejich významem v procesu dekompozice. Některé rody (*Pestalotiopsis*, *Alternaria*) jsou známé jako patogenní houby, ale byly nalezeny také na spadlých listech a jako endofyté v pletivech živých rostlin. Rody *Xylaria* nebo *Geniculosporium* se běžně vyskytují jako endofyté i na opadu v tropických lesích. Promputtha et al. (2007) se této otázce věnovali ve své práci, kde izolovali houby z hostitele *Magnolia liliifera* a porovnávali endofytní a saprotrofní druhy. Mnoho druhů hub se v hostiteli vyskytovalo jako endofyté i jako saprotrofové a tyto druhy si byly mezi sebou velmi příbuzné

(druhy rodů *Fusarium*, *Phomopsis*, *Corynespora*, *Guignardia*, *Xylaria*). Studie však nepotvrdila, že tyto endofytické houby přejdou k saprotrofnímu způsobu života, potvrdila pouze jejich příbuznost.

Několik prací potvrdilo přítomnost endofytických hub na opadu na začátku dekompozičního procesu, potom však tyto houby z opadu vymizí. Jeden z názorů tvrdí, že endofyty mohou využívat spadlé listy k pohlavnímu rozmnožení a sporulaci. Potom znovu kolonizují živé listy a tím uzavřou svůj životní cyklus. Schopnost kolonizace opadu endofytickými houbami také závisí na jejich schopnosti využití substrátu. Některé houby (rody *Phomopsis* nebo *Xylaria*) mají tuto schopnost vysokou, umí štěpit lignin, proto na opadu vytrvávají déle. Jiné rody (např. rod *Phyllosticta*) neumějí využívat celulózy a hemicelulózy, vyskytují se tedy na opadu pouze na začátku procesu dekompozice a potom mizí. Kolonizace opadu endofyty může ovlivnit kolonizaci ostatními saprotrofy. Některé endofytické houby produkují antibiotické metabolity, které mohou mít význam v boji proti kompetitorům. S procesem dekompozice je spojena také akumulace a uvolňování dusíku a fosforu. Endofytické houby přecházející k saprotrofnímu způsobu výživy mohou tedy ovlivňovat dynamiku těchto dvou prvků (Osono a Hirose, 2009).

Mnoho endofytických hub může mít baktericidní nebo fungicidní účinky (Fisher et al., 1984), což slibuje využití v zemědělství nebo medicíně (Zhang et al., 2006; Aly et al., 2010).

## 4. Houby na zástupcích čeledi Ericaceae

V čeledi Ericaceae jsou z hlediska endofytických hub prozkoumány hlavně kořeny, hodně literatury se věnuje také diverzitě hub tvořících erikoidní mykorhizu. Nadzemní části jsou oproti kořenům prozkoumány méně.

Mezi poměrně dobře prozkoumané patří zástupci podčeledi Ericoideae (druhy rodů *Erica*, *Calluna*, *Rhododendron*), kterým se věnují některé diverzitní studie endofytů (Petrini, 1984; Okane et al., 1998; Fisher et al., 1984). Dále je dobře prozkoumaná diverzita v rodech *Vaccinium* a *Gaultheria* z podčeledi Vaccinioideae (Petrini, 1984; Fisher et al., 1984; Zeller, 1934; Barr, 1970; Petrini et al., 1982). Někteří autoři věnují pozornost ještě podčeledi Arbutoideae, hlavně rodům *Arbutus* a *Arctostaphylos* (Zeller, 1934; Petrini et al., 1982). Naopak velmi málo prozkoumaná je zřejmě podčeleď Monotropoideae.

V následujících kapitolách uvádím druhová jména hub tak, jak jsou uvedena v literatuře.

### 4.1. Diverzitní studie endofytů

Tyto studie většinou zkoumají diverzitu hub v několika vybraných zástupcích čeledi Ericaceae na jednom území. Vybírány jsou dominantní nebo vzácnější druhy vyskytující se v dané oblasti.

Petrini et al. (1982) zkoumali endofytické houby ve stálezelených keřích v Oregonu, mezi nimi také ve dvou zástupcích z čeledi Ericaceae: *Arctostaphylos uva-ursi* a *Gaultheria shallon*. Nejčastějším druhem v těchto rostlinách byl druh *Phyllosticta pyrolae* a dále druhy *Aureobasidium ribis*, *Phyllosticta vaccinii*, *Physalospora arctostaphyli* a *Pleospora herbarum*. Některé rody hub (*Geniculosporium* sp., *Pezicula* sp., *Sigmoidea* sp.) izolované z druhů *Arctostaphylos uva-ursi* a *Gaultheria shallon* byly již dříve izolovány také z jehlic některých jehličnanů (Carroll et al., 1977; Petrini a Carroll, 1981). Některé rody (*Acremonium* sp., *Nodulisporium* sp., anamorfy rodu *Xylaria*) byly často zaznamenány jako endofyté a pravděpodobně nejsou specifické pro jednoho konkrétního hostitele. Studie také ukázala, že endofyté, kteří jsou běžní pro jednoho hostitele, se již s menší četností vyskytují na ostatních hostitelích. Míra kolonizace endofyty také závisela na vlhkosti prostředí (druhy *Gaultheria shallon* a *Arctostaphylos uva-ursi* preferují středně vlhká stanoviště, což také odpovídalo jejich kolonizaci houbami oproti ostatním druhům rostlin) a hustotě porostu (kolonizace endofyty byla menší na více otevřených stanovištích, například v druhu *Gaultheria shallon*). Tento jev pozorovali již Petrini a Carroll (1981) na jehlicích jehličnanů.

V další práci zkoumal Petrini (1984) endofytické houby v britských zástupcích čeledi Ericaceae: ve třech druzích rodu *Erica*, v druzích *Calluna vulgaris*, *Vaccinium myrtillus* a

*Vaccinium vitis-idaea*. Při výzkumu izoloval 58 druhů hub. Některé druhy, jako *Pezizula myrtillina* nebo *Phyllosticta pyrolae*, byly na hostitelích z čeledi Ericaceae známy již dříve. Petrini (1984) zmiňuje dvě dizertační práce, kde tyto houby zkoumali na druzích *Erica carnea* a *Arctostaphylos uva-ursi*. Jiné druhy byly z těchto druhů rostlin izolovány poprvé, např. anamorfní stadia rodů *Daldinia* a *Xylaria* (*Nodulisporium* spp.) a druh *Helicodendron luteoalbum* (Petrini, 1984).

Petrini (1985) se v další studii věnoval endofytickým houbám na sedmi zástupcích čeledi Ericaceae v Evropě. Nejvíce druhů hub izoloval z hostitele *Vaccinium vitis-idaea*, nejméně z *Rhododendron ferrugineum*. Diverzita a četnost endofytických hub závisela na studovaném místě a na morfologii listů. Petrini (1985) také konstatoval hostitelskou specifitu na úrovni čeledi.

V práci Okane et al. (1998) zkoumali endofytické houby v zástupcích čeledi Ericaceae v Japonsku: v šesti druzích rodu *Rhododendron*, v druzích *Enkianthus perulatus* a *Pieris japonica*. Některé druhy hub se velmi často objevovaly ve všech zkoumaných rostlinách. Ze všech rostlin byly izolovány druhy *Colletotrichum gloeosporioides*, *Guignardia* sp. (a její anamorfa *Phyllosticta* sp.) a *Phomopsis* sp. Naproti tomu druh *Discostroma tricellulare* byl specifický pro hostitele *Rhododendron obtusum*. Ze sedmi hostitelů byly izolovány druhy *Alternaria alternata* a *Pestalotiopsis* sp., avšak s menší frekvencí. Z živých listů druhu *Pieris japonica* bylo izolováno méně hub než z ostatních hostitelů. Druh *Pieris japonica* produkuje toxické diterpeny a další metabolity, které mohou mít vliv na kolonizaci tohoto druhu endofytickými houbami. V této studii také porovnávali četnost různých druhů hub na živých listech a na listech z opadu. Na listech z opadu výrazně poklesla četnost druhů *Colletotrichum gloeosporioides*, *Discostroma tricellulare*, *Guignardia* sp. a *Phomopsis* sp. Naopak druhy *Alternaria alternata* nebo *Pestalotiopsis* sp. se na opadaných listech vyskytovaly častěji (Okane et al. 1998).

V některých pracích se autoři nezabývají pouze diverzitou hub v rostlině, ale také zjišťují, zda některé endofytické houby obsahují různé biologicky aktivní látky s baktericidními nebo fungicidními účinky. Konkrétně ve studii Fisher et al. (1984), kde autoři testovali antibiotickou aktivitu endofytických hub z rostlin z čeledi Ericaceae. Houby izolovali z živých větviček a listů druhů *Calluna vulgaris*, *Erica cinerea*, *Erica tetralix*, *Vaccinium myrtillus* a *Vaccinium vitis idaea*. Baktericidní účinky vykazoval druh *Phyllosticta pyrolae*. Fungicidní účinky měly druhy *Coniothyrium* spp. a *Daldinia* sp. Aktivitu proti houbám i bakteriím vykazovaly druhy *Coleophoma empetri*, *Cryptosporiopsis* sp., *Topospora* sp. K tomuto výzkumu byly vybrány patogeny potenciálně nebezpečné pro člověka: houby

*Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Aspergillus niger* a bakterie *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*.

Tejesvi et al. (2011) izoloval endofytické houby z hostitele *Rhododendron tomentosum* ve Finsku a testoval jejich antibakteriální a antioxidační účinky. Z 87 izolovaných druhů hub byl dominantní druh *Fusarium* sp., který se v jiných studiích na hostitelích z čeledi Ericaceae neobjevoval. Přibližně 10 % izolovaných hub produkovalo látky s antibakteriálními účinky (rody *Fusarium*, *Lecytophora*, *Sordaria*, *Pleosporales*) a 14 % s antioxidačními účinky (rody *Fusarium*, *Sphaerithyrium*, *Penicillium*, *Arthrinium*).

Aly et al. (2010) ve své souhrnné práci zmínil také neurčený druh rodu *Nodulisporium* izolovaný z hostitele *Erica arborea*. Tento druh produkoval řadu metabolitů s fungicidními a baktericidními účinky.

#### **4.2. Taxonomické práce**

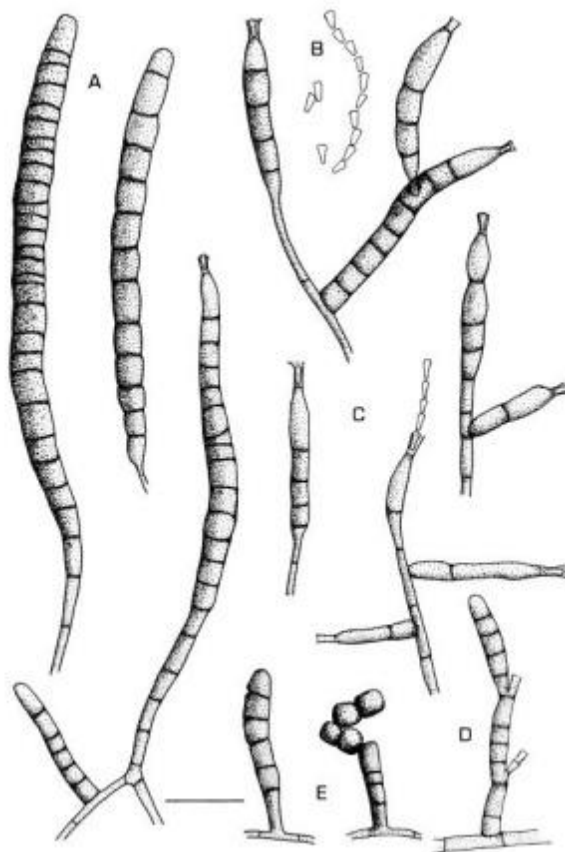
Další práce se zabývají různými taxonomickými novinkami mezi endofytickými houbami izolovanými z některého zástupce čeledi Ericaceae. Tyto studie se většinou věnují pouze jednomu druhu houby.

Carris (1988) ve své práci popsal nový druh endofytické houby *Chalara vaccinii* (Obr. 1), který byl poprvé izolován z listů a stonku devíti kultivarů *Vaccinium macrocarpon* v New Jersey. Tento druh byl přítomen ve 34 z 1080 listů a ve 2 z 576 částí stonku, objevoval se tedy poměrně vzácně. Vztah mezi druhem *Chalara vaccinii* a hostitelskou rostlinou není jistý. Houba byla izolována z živých i mrtvých pletiv rostliny.

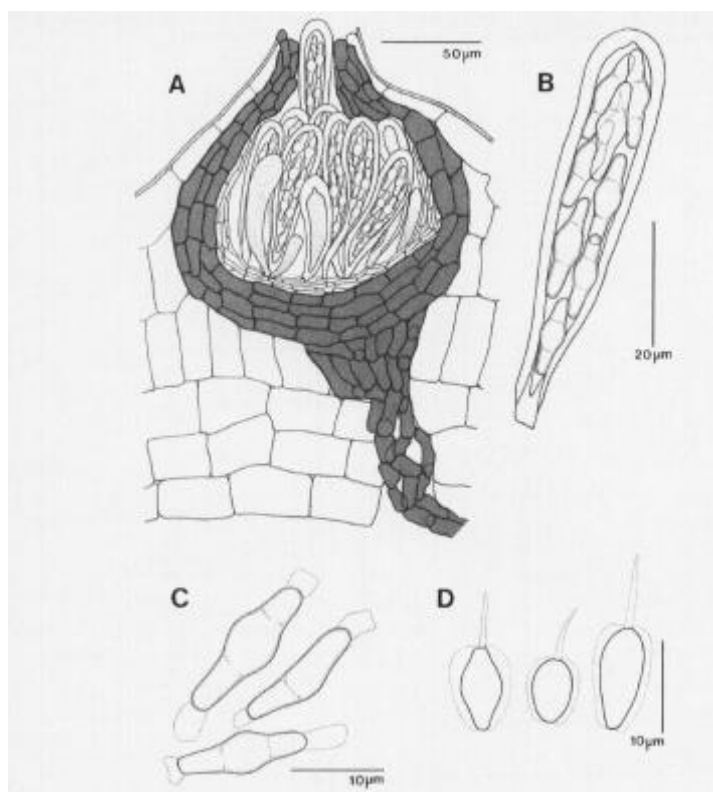
Okane et al. (2001) se ve své studii věnovali novému druhu endofytické houby *Guignardia endophyllicola* (Obr. 2) s anamorfoou *Phyllosticta capitalensis*. Tento druh podle autorů práce často kolonizuje rostliny z čeledi Ericaceae a je morfologicky odlišitelný od patogenních hub, které byly z rostlin z čeledi Ericaceae izolovány již dříve. Jsou to *Guignardia philoprina* (anamorfa *Phyllosticta concentrica*), *Guignardia rhodora* (anamorfa *Phyllosticta maxima*) a *Guignardia vaccinii* s anamorfoou *Phyllosticta elongata* (van der Aa, 1973). Petrini (1984) izoloval další příbuzný anamorfní druh *Phyllosticta pyrolae* ze čtyř zástupců čeledi Ericaceae. K výzkumu bylo použito 16 kmenů izolovaných z pěti druhů rodu *Rhododendron* a z druhu *Enkianthus perulatus*. Dále byl použit zástupce rodu *Phyllosticta* izolovaný z rostliny *Pieris japonica*. Okane et al. (2001) předpokládali, že *Guignardia endophyllicola* je ubikvitním druhem v japonských zástupcích čeledi Ericaceae.

V další práci zkoumali Okane et al. (2003) rozsah hostitelů endofytické houby *Guignardia endophyllicola*. Druhy rodu *Guignardia* byly izolovány z rostlin *Vaccinium bracteatum*, *Gaultheria humifusa*, *Oxycoccus macrocarpos* a *Rhododendron* spp. Jejich anamorfa *Phyllosticta* spp. byla izolována z *Leucothoe grayana*, *Erica carnea*, *Rhododendron dilatatum* a *Vaccinium* spp. (Okane et al., 2003).

Watanabe et al. (2010) popsali ve své studii nový druh endofytické houby *Pestalotiopsis pallidotheae*, který izolovali z hostitele *Pieris japonica*. Odlišení nového druhu v rámci velkého rodu *Pestalotiopsis* se podařilo také díky molekulární analýze ITS rDNA.



**Obr. 1:** *Chalara vaccinii*. (A) Fragmospory, (B) Fialokonidie, (C) Konidiofory a fialidy, (D) Proliferující fialidy, (E) Fragmospory s oddělovacími se buňkami (převzato z Carris, 1988)



**Obr. 2:** *Guignardia endophyllicola* (anam. *Phyllosticta capitalensis*). (A) Plodnice, (B) Vřecko, (C) Askospory, (D) Konidie (převzato z Okane et al., 2001)

### 4.3. Saprotrofní a nekrotrofně parazitické houby

Někteří autoři věnovali pozornost také houbám rostoucím na opadu rostlin z čeledi Ericaceae, případně houbám způsobujícím viditelné léze a nekrózy na živých částech rostlin. Mezi tyto druhy pravděpodobně patří i endofyté, kteří kolonizují opadané části rostlin nebo přechází do parazitického způsobu výživy (viz. Kap. 3).

Sutton (1969) ve své studii popsal nový druh houby *Ampulliferina persimplex*, který kolonizuje listy z opadu *Ledum groenlandicum* („labrador tea“). Tento druh byl nalezen na vnějším povrchu listů a společně s druhy *Lophodermium sphaerioides* a anamorfním stádiem *Griphosphaeria corticola* představovaly nejčastější druhy na tlejících listech *Ledum groenlandicum* v Kanadě. Druh *Lophodermium sphaerioides* byl na hostiteli *Ledum groenlandicum* zaznamenán také v USA (Farr et al., 1989).

Okane et al. (1998) se ve své práci zabývali také druhy na listech opadu. Pět druhů se vyskytovalo na živých i mrtvých listech. Pouze na listech z opadu se vzácně vyskytovaly druhy *Discosia arctocrea*, *Epicoccum purpurascens*, *Nigrospora oryzae*, *Cladosporium* spp., *Phoma* sp., a *Rhizoctonia* sp.

Zeller (1934) sbíral houby na čeledi Ericaceae na severozápadě USA. Většina druhů, kterým se ve své práci věnoval, je parazitických, zmiňuje však také dva saprotrofní druhy: druh *Leptosphaeria gaultheriae*, který je běžný na mrtvých stoncích hostitele *Gaultheria shallon*, a druh *Phacidium vaccinii*, který se vyskytoval na listech opadu druhu *Rhododendron californicum*.

Další literární údaje o houbách, které se vyskytují na hostitelích z čeledi Ericaceae, jsou rozptýlené v mnoha literárních zdrojích. Farr et al. (1989) uvádí ve svém kompendiu několik set druhů z 20 rodů čeledi Ericaceae. Naproti tomu Ellis a Ellis (1985) uvádějí na rodu *Rhododendron* pouze 24 druhů hub a na *Vaccinium* 20 druhů. Ellis (1971) ve své souhrnné práci uvádí tři druhy hyfomycetů na hostitelích rodu *Rhododendron* a jeden druh na rodu *Vaccinium*. Nag Raj (1993) zmiňuje pouze 8 druhů coelomycetů s přívěskatými sporami na rodu *Rhododendron* a 7 druhů na rodu *Vaccinium*.

#### 4.4. Překryv druhů mezi hostitelskými rostlinami

Druhy endofytických hub se v jednotlivých studiích příliš nepřekrývají. Výjimku tvoří několik druhů, které autoři izolovali nezávisle na sobě z různých druhů hostitelských rostlin a různých geografických oblastí.

Mezi nejčastější druhy, které je možno nalézt jako endofyty na čeledi Ericaceae, patří anamorfní druh *Phyllosticta pyrolae*. Izolovali jej Petrini et al. (1982), Petrini (1984) a Petrini (1985) z hostitelů *Calluna vulgaris*, *Erica tetralix*, *Erica carnea*, *Arctostaphylos uva-ursi*, *Gaultheria Shallon* a *Vaccinium* spp. Dále tento druh izoloval Fisher et al. (1984) z *Vaccinium vitis-idaea* a Okane et al. (2003) z *Erica carnea*. Ve studii Okane et al. (2001) však tento druh z žádného zástupce čeledi Ericaceae izolován nebyl. Autoři této práce předpokládají, že v Japonsku se, na rozdíl od Evropy, tato houba příliš často nevyskytuje. Farr et al. (1989) uvádí druh *Phyllosticta pyrolae* z pěti druhů rodu *Pyrola*. Rod *Phyllosticta* patří mezi několik ubikvitních rodů, které kolonizují velké množství hostitelů (Carroll, 1988).

Ve dvou studiích byl izolován druh *Phacidium lunatum* z hostitele *Calluna vulgaris* a druh *Coleophoma empetri* z druhů rodu *Erica* (Petrini, 1984; Fisher et al., 1984). Podle práce Di Cosmo et al. (1984) byl druh *Phacidium lunatum* nalezen na hostiteli *Gaultheria procumbens* a jeho anamorfa *Apostrasseria lunata* na listech druhů *Gaultheria procumbens* a *Vaccinium macrocarpum* v Kanadě a USA.

Dále byli alespoň ve dvou studiích a ze dvou hostitelů izolováni neurčení zástupci rodů *Cryptosporiopsis*, *Geniculosporium*, *Nodulisporium*, *Ramularia* a *Topospora* (Petrini et



al., 1982; Petrini, 1984; Fisher et al. 1984; Okane et al., 1998). Rod *Cryptosporiopsis* je běžným endofytním rodem pro velké množství hostitelů (Carroll, 1988).

Některé houby byly také v různých studiích izolovány z živých nebo naopak mrtvých částí rostliny. Druh *Guignardia vaccinii* izolovali Okane et al. (2003) z živého listu *Oxycoccus macrocarpos* a Barr (1970) jej zaznamenala na mrtvých listech nebo větvičkách *Vaccinium* spp., *Lyonia lucida*, *Kalmia latifolia*, *Gaultheria procumbens* a *Arctostaphylos columbiana*.

Druh *Physalospora vaccinii* izolovali Schulz et al. (1993) z živého listu *Vaccinium oxycoccus* a Barr (1970) jej našla na mrtvých listech *Vaccinium* spp.

Mezi další houby, které byly izolovány z živých i mrtvých částí alespoň dvou hostitelů minimálně ve dvou studiích patří zástupci rodů *Cladosporium*, *Guignardia* a *Phomopsis* (Petrini et al., 1982; Fisher et al., 1984; Schulz et al., 1993; Okane et al., 1998; Okane et al., 2003). Druhy rodu *Phomopsis* také zaznamenal jako parazity Farr et al. (2002) na větvičkách několika druhů rodu *Vaccinium*. Rod *Phomopsis* je velmi častá endofytická houba, která se vyskytuje v mnoha hostitelských rostlinách (Carroll, 1988).

Méně častým druhem houby v čeledi Ericaceae je např. *Chalara vaccinii*, kterou popsal Carris (1988) a která od té doby zřejmě nebyla z žádného zástupce čeledi Ericaceae izolována. Dalším takovým druhem je např. *Helicodendron luteo-album*, který izoloval Petrini (1984) vzácně z hostitele *Calluna vulgaris*.

Trend, kdy je pouze jeden druh pravidelně nalézán na více zástupcích jednoho rodu, má zřejmě obecnější platnost. Podobný překryv pozorovali Koukol et al. (2011) na zástupcích rodu *Picea*. Ve většině hostitelů se vyskytoval pouze jeden druh endofytické houby, *Lophodermium piceae*, ostatní druhy endofytických hub se vyskytovaly v menším počtu hostitelů.

## 5. Metodické přístupy ke studiu endofytních hub v Ericaceae

Při studiu literatury jsem se zajímala také o metodiku izolace endofytických hub z hostitelských rostlin a jejich určování, protože některé z těchto metod budu využívat v praktické části budoucí diplomové práce. Důležité jsou především metoda povrchové sterilizace a druh agarového média. Sterilizací je nutné odstranit povrchové kontaminanty a zároveň neovlivnit endofytické houby, agarové médium může mít selektivní účinek na získané druhy hub.

### 5.1. Izolace

Schulz et al. (1993) ve své práci testovali účinnost povrchově sterilizačních metod pro izolaci endofytů z rostlin. Použili části listů z 12 zdravých bylin a křovin, mezi nimi také dvě rostliny z čeledi Ericaceae. Na sterilizaci jejich povrchu použili sedm metod, ve kterých používali v různých kombinacích a časech působení 96% nebo 50% etanol, 37-40% formaldehyd a 15% chlornan sodný zředěný destilovanou vodou v poměru 2:1 nebo 1:3. Sterilizované části listů byly potom umístěny na 2% sladidinový agar obsahující antibiotika a ponechány osm týdnů při pokojové teplotě. Pro izolaci endofytů byly spolehlivé všechny metody, kromě metody s 50% etanolem, kdy přežily některé epifytní houby s odolnými sporami, například *Alternaria* sp.

V práci Petrini et al. (1982) byly zdravě vypadající listy sterilizovány 1 min v 96% etanolu, 10 min v 3,25% chlornanu sodném a 30 s znovu v 96% etanolu. Listy byly rozděleny na malé části, umístěny na Petriho misky s 2% sladidinovým agarem a inkubovány při 20 °C. Petrini et al. (1982) konstatovali, že použití pouze sladidinového agaru mohlo znevýhodnit některé pomaleji rostoucí houby, například některé bazidiomycety.

V další práci použil Petrini (1984) ke sterilizaci metodu podle Carrola et al. (1977): Listy byly nejprve krátce ponořeny do 90% etanolu a potom 10 min sterilizovány v chlornanu sodném s destilovanou vodou v poměru 2:1. Listy a větvičky byly potom rozkrájeny sterilním skalpelem na několik částí, umístěny na sladidinový agar a inkubovány při pokojové teplotě.

V práci Fisher et al. (1984) byly zdravé listy a větvičky pěti rostlin z čeledi Ericaceae povrchově sterilizovány 96% etanolem, 11% chlornanem sodným a znovu 96% etanolem. Délka působení činidel se lišila v závislosti na tloušťce kutikuly. Po sterilizaci byly listy a větvičky nakrájeny na malé části, umístěny na 2% sladidinový agar a inkubovány při pokojové teplotě.

Carris (1988) použil pro povrchovou sterilizaci 0,6% chlornan sodný s 0,01% Tween 20, které nechal působit 10 min, potom listy opláchl v destilované vodě. Části listů a stonku umístil na PDA.

Ve studii Okane et al. (1998) byly listy před kultivací pečlivě povrchově sterilizovány: 1 min v 70% etanolu a 1 až 2 min v chlornanu sodném. Potom byly omyty v destilované vodě a umístěny na sterilní papír, aby se z povrchu odstranila voda. Potom byly listy rozděleny na dvě části, ty byly umístěny na sladivový agar a inkubovány při pokojové teplotě tři měsíce.

Ve své další práci použili Okane et al. (2003) podobnou metodu jako v předchozí studii s tím rozdílem, že houby byly inkubovány při teplotě 17 °C po dobu dvou měsíců.

Tejesvi et al. (2011) použili ke sterilizaci na 1 min 70% etanol, na 15 min 3,5% chlornan vápenatý a nakonec listy opláchli v destilované vodě, nakrájeli na malé části a umístili na vodní agar a sladivový agar. Misky zabalili do parafilmu a nechali inkubovat ve tmě při pokojové teplotě 6 týdnů.

Souhrnně lze říci, že způsoby sterilizace se v jednotlivých studiích příliš neliší. Většina autorů používá kombinace koncentrovaného etanolu a různě zředěného chlornanu sodného. Části listů nebo stonku jsou po sterilizaci umístěny na Petriho misky se sladivovým agarem nebo PDA a ponechány většinou při pokojové teplotě. Jednotlivé houby jsou potom přeočkovány do čistých kultur. Někteří autoři také upozorňují, že při používání stále stejných podmínek, například sladivového agaru, mají výhodu ubikvitní, rychle rostoucí houby, zatímco některé pomaleji rostoucí druhy s více specifickými nároky mohou být znevýhodněny. Naproti tomu stejné podmínky nám umožňují porovnávat studie mezi sebou.

## 5.2. Identifikace hub

Vzhledem k tomu, že většina literatury, se kterou jsem pracovala, je staršího data, nebyly v pracích molekulární metody ještě využívány. Většina autorů proto používala výhradně morfologické znaky pro identifikaci izolovaných druhů hub. Jako příklad uvádím novější práce, kde byly metody kombinovány.

V pracích Okane et al. (2001) a Watanabe et al. (2010) byly studovány úseky ITS1 a ITS2 rDNA. Výsledky pomohly odlišit jednotlivé druhy rodů *Guignardia* a *Pestalotiopsis*.

Ve studii Tejesvi et al. (2011) byly použity stejné úseky k identifikaci izolovaných kmenů. Kromě toho byla použita izolace DNA přímo z listů druhu *Rhododendron tomentosum*. DNA byla amplifikována houbově specifickými primery. Získané sekvence byly klonovány a následně sekvenovány a analyzovány spolu se sekvencemi z GenBank. Nekultivovatelné druhy hub nepatřily k žádnému známému rodu a byly odlišné od kultivovatelných druhů.

## 6. Výhled na DP

Navazující diplomová práce se bude zabývat diverzitou endofytických hub v druhu *Ledum palustre*, který není v tomto ohledu příliš prozkoumaný. Nenašla jsem žádnou práci, která by se cíleně věnovala diverzitě hub v některém druhu rodu *Ledum*. Houby na rodu *Ledum* jsou zmíněny pouze v několika studiích. V práci Sutton (1969) je zmíněný druh *Ledum groenlandicum*, na jehož opadu byl popsán nový druh houby. Barr (1970) našla na druhu *Ledum decumbens* saprotrofní druh houby a Zeller (1934) dva parazitní druhy na hostiteli *Ledum glandulosum*. Di Cosmo et al. (1984) zmínil druh *Pseudophacidium ledi* na větvičkách *Ledum palustre*. Podle Farr et al. (1989) je na družích rodu *Ledum* v USA známo jedenáct druhů askomycetů a šest druhů coelomycetů. V souhrnných atlasech je uváděno pouze několik druhů hub na zástupcích rodu *Ledum*. Nag Raj (1993) a Ellis (1971) uvádějí na hostiteli z rodu *Ledum* pouze jeden druh houby. V knize Ellis a Ellis (1985) nejsou houby na rodu *Ledum* vůbec zmíněny. Většina prací se věnuje houbám na družích rodu *Ledum* v Americe, v Evropě se pravděpodobně houbám na rodu *Ledum* dosud nikdo nevěnoval.

Druh *Ledum palustre* kolonizuje dva typy stanovišť: rašeliniště a vřesoviště a také chladnější stinné pískovcové skály. V České republice se vyskytuje především v pohraničních pohořích (NP České Švýcarsko, CHKO Jizerské hory), Adršpachu, Slavkovském lese, na Českomoravské vrchovině, v Jeseníkách a v CHKO Třeboňsko. Jedná se o ohrožený druh, v České republice je chráněný zákonem. Získané výsledky mohou být tedy zajímavé i z hlediska ochrany.

Jako jeden z cílů diplomové práce se nabízí srovnání diverzity hub v druhu *Ledum palustre* ze dvou odlišných stanovišť (rašeliniště a pískovcových skal). Dalším možným cílem diplomové práce je srovnání diverzity hub v hostiteli *Ledum palustre* s houbami v nějakém jiném, méně vzácném zástupci čeledi Ericaceae, např. *Vaccinium myrtillus*. Předchozí studie poukázaly na určitý překryv druhů endofytických hub, bylo by tedy zajímavé zjistit, zda vzácný druh hostitelské rostliny kolonizují jiné houby než běžný druh s častějším výskytem. Důležitou roli může hrát také obsah toxických terpenů v druhu *Ledum palustre*. Na tento vliv poukázal Okane et al. (1998), když konstatoval menší četnost hub v druhu *Pieris japonica*, který také produkuje toxické metabolity.

Houby budu izolovat z listů po povrchové sterilizaci, při které budu používat kombinaci etanolu a chlornanu sodného. Druhy hub budu určovat pomocí klasických morfologických metod s využitím analýz sekvencí DNA. Jako optimální se hodí úsek ITS rDNA, který bývá nejčastěji používán pro srovnání se sekvencemi uloženými v databázi GenBank.

## 7. Závěr

Endofytické houby v nadzemních pletivech rostlin čeledi Ericaceae zatím nejsou příliš prozkoumány. Při porovnávání studií zabývajících se diverzitou endofytických hub v této čeledi bylo zjištěno, že houby se napříč hostitelskými rostlinami a geografickými oblastmi příliš nepřekrývají. Jednou z mála výjimek je druh *Phyllosticta pyrolae*, který byl izolován nezávisle v pěti různých studiích z osmi hostitelů. Rod *Phyllosticta*, stejně jako další rody, které se v některých pracích objevovaly opakovaně (např. rody *Cryptosporiopsis* a *Phomopsis*), patří obecně mezi několik rodů hub, které se velmi často vyskytují ve většině fylogenetických linií rostlin.

Několik studií také porovnává druhy vyskytující se v živých pletivech a na opadu Ericaceae nebo se zabývá pouze houbami na opadu. Příklady druhů, které byly opakovaně zaznamenány na opadu i v živých pletivech jsou druhy *Guignardia vaccinii* a *Physalospora vaccinii*. Tyto studie mohou osvětlit dosud ne zcela jasný přechod endofytických druhů hub mezi saprotrofní kolonizátory opadu.

V poslední části této práce je shrnuta metodika izolace a určování endofytických hub. K povrchové sterilizaci jsou nejčastěji používány kombinace etanolu a chlornanu sodného a jako médium je používán sladidinový agar. Metodika práce bude využita v navazující diplomové práci, která se bude věnovat především diverzitě endofytických hub v druhu *Ledum palustre*.

## 8. Seznam použité literatury

- Aa van der, H. A., 1973. Studies in *Phyllosticta* I. – Studies in Mycology 5: 1-100.
- Aly, A. H., Debbab, A., Kjer, J., Proksch, P., 2010. Fungal endophytes from higher plants: a prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products. – Fungal Diversity 41: 1-16.
- Aly, A. H., Debbab, A., Proksch, P., 2011. Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. – Applied Microbiology and Biotechnology 90: 1829-1845.
- Arnold, A. E., Lutzoni, F., 2007. Diversity and host range of foliar fungal endophytes: are tropical leaves biodiversity hotspots? – Ecology 88: 541-549.
- Arnold, A. E., Mejía, L. C., Kyllö, D., Rojas, E. I., Maynard, Z., Robbins, N., Herre, E. A., 2003. Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. – Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 100: 15649-15654.
- Baral, H. O., Krieglsteiner, L., 2006. *Hymenoscyphus subcarneus*, a little known brycolous discomycete found in the Białowieża National Park. – Acta Mycologica 41: 11-20.
- Barr, M. E., 1970. Some asexual Ascomycetes on Ericaceae and Empetraceae. – Mycologia 62: 377-394.
- Cairney, J. W. G., Ashford, A. E., 2002. Biology of mycorrhizal associations of epacrids (Ericaceae). – New Phytologist 154: 305-326.
- Carris, L. M., 1988. *Chalara vaccinii* sp. nov., a *Vaccinium* endophyte. – Mycologia 80: 875-879.
- Carroll, F. E., Müller, E., Sutton, B. C., 1977. Preliminary studies on the incidence of needle endophytes of some European conifers. – Sydowia 29: 87-103.
- Carroll, G., 1988. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiont. – Ecology 69: 2-9.
- Couture, M., Fortin, J. A., 1983. *Oidiodendron griseum* Robak: an endophyte of ericoid mycorrhiza in *Vaccinium* spp. – New Phytologist 95: 375-380.
- Di Cosmo, F., Nag Raj, T. R., Kendrick, W. B., 1984. A revision of the Phacidiaceae and related anamorphs. – Mycotaxon 21: 1-234.
- Ellis, M. B., 1971. Dematiaceous hyphomycetes. CAB International, 602 str.
- Ellis, M. B., Ellis, J. P., 1985. Microfungi on land plants. Croom Helm, 818 str.
- Farr, D. F., Bills, G. F., Chamuris, G. P., Rossman, A. Y., 1989. Fungi on plants and plant products in The United States. APS Press, 1252 str.

Farr, D. F., Castlebury, L. A., Rossman, A. Y., Putnam, L. M., 2002. A new species of *Phomopsis* causing twig dieback of *Vaccinium vitis-idaea* (lingonberry). – Mycological Research 106: 745-752.

Fisher, P. J., Anson, A. E., Petrini, O., 1984. Antibiotic activity of some endophytic fungi from ericaceous plants. – Botanica Helvetica 94: 249-253.

Grünig, Ch. R., Queloz, V., Sieber, T. N., Holdenrieder, O., 2008. Dark septate endophytes (DSE) of the *Phialocephala fortinii* s. l. – *Acephala aplanata* species complex in tree roots: classification, population biology, and ecology. – Canadian Journal of Botany 86: 1355-1369.

Kjøller, R., Olsrud, M., Michelsen, A., 2010. Co-existing ericaceous plant species in a subarctic mire community share fungal root endophytes. – Fungal Ecology 3: 205-214.

Koukol, O., Kolařík, M., Kolářová Z., Baldrian, P., 2011. Diversity of foliar endophytes in wind-fallen *Picea abies* trees. – Fungal Diversity: DOI 10.1007/s13225-011-0112-2.

Kron, K. A., Judd, W. S., Stevens, P. F., Crayn, D. M., Anderberg, A. A., Gadek, P. A., Quinn, C. J., Luteyn, J. L., 2002. Phylogenetic classification of Ericaceae: molecular and morphological evidence. – The Botanical Review 68: 335-423.

Mitchell, D. T., Gibson, B. R., 2006. Ericoid mycorrhizal association: ability to adapt to a broad range of habitats. – Mycologist 20: 2-9.

Nag Raj, 1993. Coelomycetous anamorphs with appendage-bearing conidia. Mycologue Publications, 1101 str.

Okane, I., Lumyong, S., Nagakiri, A., Ito, T., 2003. Extensive host range of an endophytic fungus, *Guignardia endophyllicola* (anamorph: *Phyllosticta capitalensis*). – Mycoscience 44: 353-363.

Okane, I., Nagakiri, A., Ito, T., 1998. Endophytic fungi in leaves of ericaceous plants. – Canadian Journal of Botany 76: 657-663.

Okane, I., Nagakiri, A., Ito, T., 2001. Identity of *Guignardia* sp. inhabiting ericaceous plants. – Canadian Journal of Botany 79: 101-109.

Osono, T., Hirose, D., 2009. Ecology of endophytic fungi associated with leaf litter decomposition. – In: Rai, M., Bridge, P. D. (Ed.), 2009. Applied Mycology, CAB International, str. 92-109.

Petrini, O., 1984. Endophytic fungi in British Ericaceae: a preliminary study. – Transactions of the British Mycological Society 83: 510-512.

Petrini, O., 1985. Wirtsspezifität endophytischer Pilze bei einheimischen Ericaceae. – *Botanica Helvetica* 95: 213-238.

Petrini, O., Carroll, G., 1981. Endophytic fungi in foliage of some Cupressaceae in Oregon. – *Canadian Journal of Botany* 59: 629-636.

Petrini, O., Stone, J., Carroll, F. E., 1982. Endophytic fungi in evergreen shrubs in western Oregon: a preliminary study. – *Canadian Journal of Botany* 60: 789-796.

Promptutha, I., Lumyong, S., Dhanasekaran, V., McKenzie, E. H. C., Hyde, K. D., Jeewon, R., 2007. A phylogenetic evaluation of whether endophytes become saprotrophs at host senescence. – *Microbial Ecology* 53: 579-590.

Rodriguez, R. J., White J. F. Jr, Arnold, A. E., Redman, R. S., 2008. Fungal endophytes: diversity and functional roles. – *New Phytologist* 182: 314-330.

Schulz, B., Wanke, U., Draeger, S., Aust, H. J., 1993. Endophytes from herbaceous plants and shrubs: effectiveness of surface sterilization methods. – *Mycological Research* 97: 1447-1450.

Stevens, P. F., 2001 a dále. Angiosperm Phylogeny Website. Version 9, June 2008. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/> (stav k dubnu 2012).

Stribley, D. P., Read, D. J., 1974. The biology of mycorrhiza in the Ericaceae III. Movement of carbon-14 from host to fungus. – *New Phytologist* 73: 731-741.

Sutton, B. C., 1969. Forest microfungi. I. *Ampulliferina persimplex* n. gen., n. sp. on leaves of labrador tea. – *Canadian Journal of Botany* 47: 609-616.

Tejesvi, M. V., Kajula, M., Mattila, S., Pirttilä A. M., 2011. Bioactivity and genetic diversity of endophytic fungi in *Rhododendron tomentosum* Harmaja. – *Fungal Diversity* 47: 97-107.

Watanabe, K., Motohashi, K., Ono, Y., 2010. Description of *Pestalotiopsis pallidothaeae*: a new species from Japan. – *Mycoscience* 51: 182-188.

Zeller, S. M., 1934. Some new or noteworthy fungi on Ericaceous hosts in the Pacific northwest. – *Mycologia* 26: 291-304.

Zhang, H. W., Song, Y. C., Tan, R. X., 2006. Biology and chemistry of endophytes. – *Natural Product Reports* 23: 753-771.