

ANDRZEJ CHLEBICKI

Zakład Mikologii

Instytutu Botaniki im. W. Szafera PAN

ul. Lubicz 46, 31-512 Kraków

Osiedle Niepodległości 6/130

31-861 Kraków

e-mail: chlebick@ib-pan.krakow.pl

OD PASOŻYTNICTWA DO MUTUALIZMU, KONSEKWENCJE DŁUGOTRWAŁYCH INTERAKCJI

PODSTAWOWE INTERAKCJE MIĘDZY GRZYBAMI PASOŻYTNICZYMI I ROŚLINAMI

Pasożytnictwo jest bardziej wyrafinowaną formą eksploatacji jednego organizmu przez drugi niż np. drapieżnictwo. Pasożyty stale będą zmieniały żywicieli wybierając takich, którzy mają najsłabszy system obrony. Warto zdać sobie sprawę z pewnej asymetrii pomiędzy strategią organizmów żywicielskich i np. parazytoidów. Te ostatnie mają możliwość wyboru żywiciela, podczas gdy żywiele takiej możliwości nie mają (ALPHEN 2002, LAPCHIN 2002). Pasożyty, stale się zmieniające i biorące czynny udział w „wyścigu zbrojeń” z swoimi żywicielami, niejako wymuszają na nich zmienność genetyczną. Różnorodność genetyczna jest zatem obroną żywiciela przed pasożytami. Można śmiało powiedzieć, że pasożyty stały się jednym z podstawowych czynników ewolucji. Intrygujące jest również to, że pasożyty potrafią infekować żywicieli bezobjawowo, tzn. że u zaatakowanego organizmu nie obserwuje się symptomów choroby. Wiąże się to ze strategią przetrwania pasożytów, które następnie w sprzyjających okolicznościach mogą dokonać ataku. Użycie niewłaściwych szczepionek może zwiększyć wirulencje pasożytów; osiągamy wówczas odwrotny efekt od zamierzonego (BONSALL 2002).

Rośliny są zaopatrzone w tzw. podstawowy system oporności, czasem nazywany obronno-

ścią bierną, aksenią lub niegościnnością. Dzięki sprawnemu funkcjonowaniu podstawowej oporności rośliny uniemożliwiają atak pasożyta i nazywamy je wtedy roślinami nie-żywicielskimi. To bardzo ważny element obrony roślin dziko rosnących. Dopiero pokonanie tej bariery przez pasożyta i powstanie oporności skierowanej przeciwko pasożytowi pozwala uznać daną roślinę za żywiciela. Taką czynną obronę nazywamy odpornością specyficzną. Wzajemne rozpoznanie się żywiciela i pasożyta związane jest z odczytywaniem wysyłanych sygnałów chemicznych bądź fizycznych. Sensory pasożyta są ulokowane na powierzchni strzępek penetrujących tkanki żywiciela. Reakcja sygnał-sensor jest złożona. Najczęściej rolę sygnału pełni elicitor, czyli substancja o niewielkich rozmiarach molekularnych, wytwarzana przez pasożyta lub powstająca na skutek jego obecności. Sensor (receptor) w sposób specyficzny wiąże się z elicitem, natomiast efektor uruchamia jedną lub całą szereg substancji, które biorą udział w dalszych interakcjach. Rozpoznanie składa się z dwu poziomów interakcji. Pierwszy poziom polega na rozpoznaniu żywiciela przez homologicznego pasożyta i ustaleniu podstawowej zgodności między tymi organizmami. Drugi poziom interakcji polega na rozpoznaniu pasożyta homologicznego

przez żywiciela i uruchomieniu całego łańcucha reakcji skierowanych przeciwko pasożytowi. Już po krótkim czasie w komórkach żywiciela są obserwowane zmiany cytologiczne. Wewnątrz infekowanych komórek jądro i cytoplasma przemieszcza się w stronę strzępek pasożyta, dotyczy to także sąsiednich komórek. Błona cytoplazmatyczna ulega depolaryzacji, uwalniane są jony K^+ i równocześnie gromadzone są jony H^+ wewnątrz komórki, uwalniane są różne aktywne formy tlenu, syntetyzowane są fitoaleksyny i enzymy hydrolityczne. Kompleksowość tych reakcji ma na celu otoczenie strzępek pasożyta martwymi tkankami, jak również czynne przeciwdziałanie za pośrednictwem enzymów hydrolitycznych. Taka reakcja często uniemożliwia pasożytowi dalsze rozprzestrzenianie się (PRELL i DAY 2001).

Jednak pasożyty, tzw. pertotrofy, niesłusznie zwane nekrotrofami, zabijają tkanki żywiciela bezpośrednio po infekcji. Tak więc żywiciel, jeśli nawet ma geny odporności, nie jest w stanie ich uruchomić. Dopiero sąsiadujące, jeszcze żywe tkanki są w stanie stworzyć barierę przeciw pasożytowi. Charakterystyczne jest to, że pertotrofy nie są pasożytami wyspecjali-

zowanymi, czyli mają szeroki zakres żywicieli. Biotroficzne pasożyty są bardziej wyspecjalizowane i nie zabijają komórek żywiciela bezpośrednio po infekcji. Starają się jak najdłużej wykorzystywać żywiciela. W tej sytuacji roślina może uruchomić geny odporności i rozwinąć drugi poziom obrony, tzw. odporność pionową skierowaną przeciwko konkretnej rasie pasożyta. Natomiast odporność skierowana przeciwko wszystkim rasom pasożyta nazywa się odpornością horyzontalną.

Układ między pasożytem a żywicielem zmienia się w czasie i oscyluje pomiędzy pasożytnictwem a mutualizmem. Osłabienie żywiciela daje przewagę pasożytowi i wtedy układ przechyla się w stronę pasożytnictwa. Żywiciel występujący w stabilnym środowisku uniemożliwia partnerowi przejście w stan pasożyta. Równocześnie w miarę upływu czasu działa zjawisko losowej utraty symbiontów, w tym również i symbiontów antagonistycznych. Żywiciele mają również inną strategię obrony – jest to ucieczka przed pasożytami na nowe siedliska (MITCHELL i POWER 2003). Tym można między innymi wytłumaczyć sukces roślin inwazyjnych.

ZAAWANSOWANE DŁUGOTRWĄLE INTERAKCJE

RZECZ O ENDOFITACH TRAW

Endofity, niemikoryzowe grzyby wewnętrzne, występują w żywych tkankach roślin nie wywołując wyraźnych objawów chorobowych. Znaczenie endofitów dla żywicieli jest jeszcze niedostatecznie zbadane (CHLEBICKI 2002a). Wiadomo, że endofity mogą produkować toksyczne substancje, utrudniające kolonizowanie żywiciela przez inne pasożyty i roślinożerców. Mogą także produkować substancje wzrostowe, wzmagające kiełkowanie. Endofity mają najczęściej uproszczony cykl życiowy. Wynika to z izolacji od zewnętrznego środowiska jaką dają im tkanki gospodarza. Najwięcej badań poświęcono kompleksowi *Epichloë/Neotyphodium* należącemu do rodziny Clavicipitaceae. Anamorfa (grzyb w stadium konidialnym) zaliczana jest do rodzaju *Neotyphodium*. W sprzyjających warunkach rozwija się z niej podkładka teleomorfy (stadium doskonałe) *Epichloë*. Niemniej oba stadia stanowią genetyczną jedność. Anamorfa, która utraciła możliwość przejścia w stadium teleomorfy staje się aseksualnym endofitem mutualistycznym. Często takie endofity dzięki hybrydyzacji mają po-

lifiletyczne pochodzenie. Występują także w postaci haploidalnej. Hybrydyzacja może być skutkiem połączeń pomiędzy sąsiednimi strzępkami różnych endofitów. Hybrydy nie mogą tworzyć konidiów, są aseksualnymi endofitami żyjącymi jedynie w przestrzeniach międzykomórkowych żywiciela w postaci „unieszkodliwionych pasożytów”, zbudowanych z długich strzępek pozbawionych haustoriów (ssawek). Takie endofity są niestabilne genetycznie. W izolowanym genetycznie endoficie kumulują się letalne mutacje (efekt Mullera). Przepływ genów z pełnocyklicznego endofita do mutualistycznego endofita jest bardzo rzadko notowany. Stabilność układu mutualistycznego jest uwarunkowana występowaniem rozmnażania płciowego, choć może być ono bardzo ograniczone. Równoczesne występowanie mutualistycznego endofita i pełnocyklicznego endofita na tej samej roślinie jest krótkotrwałe.

Status endofitów traw w obrębie *continuum* symbioza antagonistyczna–symbioza nie-antagonistyczna, jest w dużej mierze uzależniony od żywicieli. W warunkach naturalnych populacje roślin są zróżnicowane genetycznie.

Tabela 1. Relacja między endofitami *Neotyphodium* i żywicielem

	Reprodukcja	Pożywienie	Ochrona	Allelopatia
Uprawna odmiana trawy dla grzyba	++	+++	+	0
Grzyb dla uprawnej odmiany trawy	(-) 0	0	++, 0 alkaloidy	+
Dziki gatunek trawy dla grzyba	++	+++	+	0
Grzyb dla dzikiego gatunku trawy	+, 0 (-) (-)	0	++, +, 0 (-) alkaloidy	+

Najczęściej mamy do czynienia z metapopulacjami. Koewolucja pomiędzy organizmami jest ograniczona do tzw. gorących plam (ang. hot-spots) (ALPHEN 2002), gdzie w obrębie populacji ma miejsce znacznie szybsze tempo zmian genetycznych. Krajobraz ewolucyjny składa się z gorących plam znajdujących się w masie „zamrożonych” obszarów. Krajobraz może ulegać ustawicznym zmianom spowodowanym przepływem genów (genetyczny dryf, lokalne ekstynkcje). Dzięki mozaikowej selekcji i występowaniu gorących plam w obrębie metapopulacji partnerzy szybciej koewoluja.

W naturalnych populacjach endofity występują rzadko i wytwarzają niewielkie ilości toksycznych alkaloidów. Związki te chronią żywiciela przed atakiem innych patogenów i są toksyczne dla roślinożerców. *Neotyphodium typhinum*, wyizolowane z mannicy *Puccinellia distans*, ograniczało wzrost kolonii pasożytniczego gatunku *Colletotrichum capsici* (CHLEBICKI 2002b). Ten efekt wzmacniał się w miarę wzrostu stężenia NaCl (Ryc. 1). W populacjach zgryzanych przez roślinożerców selekcjonowane są genotypy endofitów produkujących alkaloidy. Podobnie, jeżeli w naturalnych warunkach populacja żywiciela konkuruje z innymi populacjami, wówczas będą selekcjonowane genotypy endofitów, produkujących alkaloidy, które będą wykazywały właściwości allelopatyczne (Tabela 1). Posiadanie endofitów jest mniej korzystne dla traw występujących w warunkach naturalnych niż w agrocenozach. Takie rośliny mają mniejszą suchą masę i mniejszą zdolność kiełkowania niż rośliny pozbawione endofitów (FAETH i SULIVAN 2003). Jaka jest zatem rola endofitów w populacjach naturalnych. Okazuje się, że podobnie jak *Wolbachia*, również *Neotyphodium* może działać jako pasożyt hamujący rozmnażanie. Aseksualne en-

dofity *Brachypodium sylvaticum* faworyzują rośliny z obniżoną płodnością (MEJIR i LEUCHTMANN 2002).

Czy ograniczenie inwazji grzyba do stadium endofita jest efektem samoobrony ze strony roślin, czy też jest to dogodne stadium dla grzyba, zdolnego do szybkiego zaatakowania rośliny w chwilach jej słabości? Pełnocyklowe endofity, które nie utraciły możliwości produkowania zarodników konidialnych lub też przechodzenia w stadium płciowe, są zdolne do przejścia w fazę pasożytniczą. Wyzwolenie reakcji patogenicznej może nastąpić na skutek np. dużych ubytków tkanek rośliny spowodowanych żerowaniem owadów lub też atakiem innego gatunku pasożytniczego grzyba. KOWALSKI (1998) zauważył, że czynnikiem wywołującym atak grzyba *Cenangium ferruginosum* jest żerowanie owada *Thecodiplosis brachyntera*.

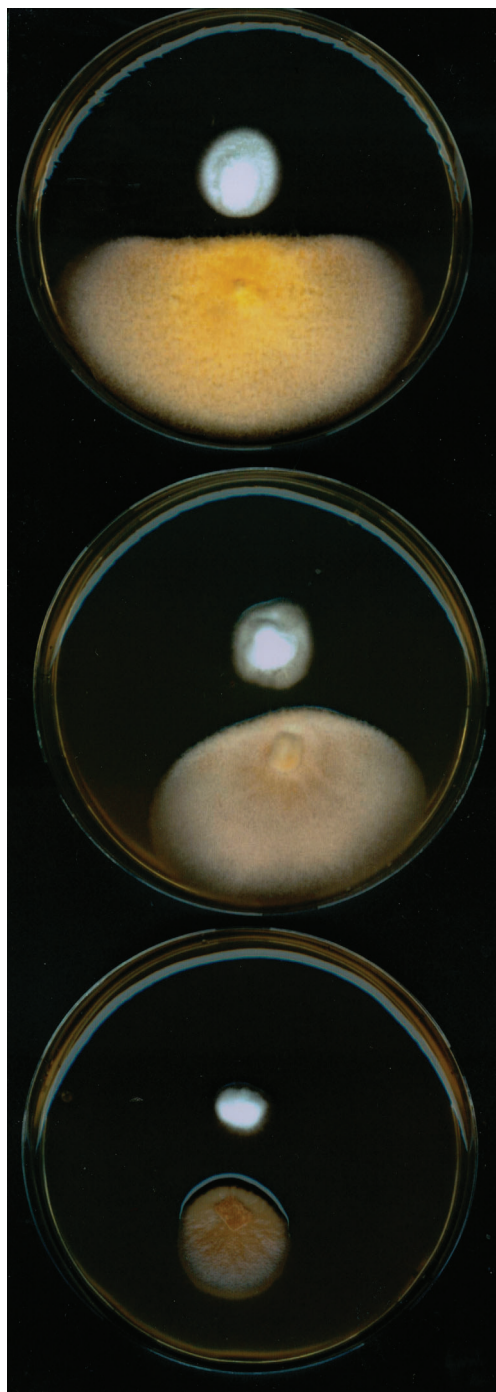
RZECZ O ZMIANIE STOSUNKU PŁCI

Obecność endosymbiontów, pasożytów, plazmidów i wirusów w obrębie rośliny można traktować jako ważne zjawisko przyrodnicze. Tkanki roślin i innych *Eucaryota* stają się miejscem kontaktu różnych potencjalnych partnerów. W takich warunkach może dojść do wzbogacenia DNA poszczególnych partnerów o nowe sekwencje.

Ogólnie wiadomo, że pasożyty wymuszają podwyższoną zmienność genetyczną swoich żywicieli. Jest to bardzo dobrze znany proces, często uznawany za motor ewolucji. Niemniej jednak, zaatakowane rośliny są przez pasożyty blokowane. Pasożyty głównie dążą do ograniczenia zmienności genetycznej żywicieli poprzez utrudnianie rekombinacji genetycznej.

Takim dobrym przykładem są ostatnie badania nad bakteriami nazywanymi zabijaczami samców (ang. male killers).

Podwyższona śmiertelność samców w populacjach żywicieli może być realizowana na dwa sposoby: poprzez wczesną śmiertelność embrionów – będącą skutkiem działania bakterii, natomiast późna śmiertelność dojrzałych larw jest spowodowana przez organizmy zwane Microsporidiami. Te ostatnie mają ułatwioną transmisję ze względu na produkowanie zarodników w obrębie martwych ciał męskich larw. Bakterie eliminujące samce z populacji należą do następujących rodzajów: *Arsenophanus* (γ -proteobakterie), *Rickettsia*, *Wolbachia* (α -proteobakterie), *Blattobacterium* (flawobakterie) i *Spiroplasma*. Najciekawszym i najlepiej poznany rodzaj jest *Wolbachia*, opisana na początku XX w. jako *Rickettsia* (HARTIG i WOLBACH 1924). *Wolbachia* redukuje liczebność samców, zmienia stosunek płci na korzyść samic i faworyzuje partenogenezę (HUIGENS i współaut. 2000). Bakterie z tego rodzaju są bardzo małe, 0,5–1,5 μm , owalne lub nieco wydłużone, żyją w cytoplazmie żywicieli, nie dają się hodować na sztucznych pożywkach. *Wolbachia* infekuje mszyce i inne owady, skorupiaki oraz nicienie. Infekcja może niekiedy sięgać aż 76% osobników z populacji (STOUTHAMER i współaut. 1999). Charakterystyczną cechą tych bakterii jest wywoływanie cytoplazmatycznej niegodności (YEN i BARR 1971), powodującej zaburzenia kariogamii i zahamowanie rozwoju embrionów samców owadów (CALLAINI i współaut. 1997). Bakterie są przekazywane w liniach żeńskich (wertikalna transmisja). Horyzontalna transmisja albo nie występuje lub jest bardzo ograniczona. Śmierć samców jest rekompensowana podwyższoną płodnością ich siostr w haplo-diploidalnych populacjach Hymenoptera. Interesujące jest także to, że infekowanie nowych osobników jest większe u tych gatunków, które składają jaja w pakietach leżących blisko siebie, natomiast jest bardzo ograniczone u gatunków składających jaja w rozproszeniu. Niektóre gatunki żywicieli uruchomiły system obronny przeciwko bakteriom. System ten może bezpośrednio hamować proces zabijania embrionów samców lub też, poprzez wytworzenie dużej zmienności genów odpowiedzialnych za determinację płci, może utrudnić identyfikację samców przez bakterie (HURST i JIGGIN 2000).



Ryc. 1. Efekt biotyczny pomiędzy *Neotyphodium typhinum* (białe kolonie u góry) i *Colletotrichum capsici* (szare kolonie poniżej) w relacji do stężenia NaCl w pożywce (górna szalka 0%, środkowa 1%, dolna 5%).

Wpływ bakterii *Wolbachia* na ewolucję żywicieli jest bardzo wyraźny. Im większa jest częstotliwość występowania tych bakterii w populacji, tym bardziej stosunek płci przechyla się na stronę samic. Bakterie mogą mieć

bardzo silny wpływ na selekcję genów w populacji żywicieli. Wydaje się jednak że długotrwała koegzystencja bakterii z żywicielami jest niemożliwa. RANDERSSON i współaut. (2000) wykazali, że bakterie zabijające samce mogą przez dłuższy czas współżyć z żywicie-

lem, jeżeli w obrębie jego populacji znajdują się linie odporne na infekcję, tzn. jeżeli rekombinacja genetyczna zostanie zachowana, chociaż w ograniczonym stopniu.

CIEMNOSTRZĘPKOWE GRZYBY ENDOFITYCZNE Z PRZEGRODAMI

Grzyby mikoryzowe bardzo rzadko występują powyżej 3000 m n.p.m. Ich miejsce na tej wysokości zajmuje specyficzna grupa grzybów początkowo nazywana kompleksem *Mycelium Radicis Atrovirens*, a ostatnio – ciemnostrzępkowe grzyby endofityczne z przegrodami (dark septate endophytes, DSE). Korzenie roślin, a zwłaszcza korzenie wierzb i turzyc są kolonizowane przez grzyby DSE należące do rodzaju *Phialophora*, jak np. *Ph. fortinii*, *Ph. gregata* i *Ph. radicola* (JUMPPONEN 1999, SCHADT i współaut. 2001). Ciemno zabarwione strzępki można obserwować głównie w korzeniach bocznych. Charakterystyczną cechą grzybni DSE jest tworzenie niewielkich mikrosklerocjów (grzybni przetrwalnikowych) w obrębie kory pierwotnej korzenia. Mikrosklerocja *Phialophora* różni się wyraźnie od sklerocjów typu *Rhizoctonia* i mikoryz typu FE (*Glomus tenuis*) jak też mikoryz typu *Cenococcum*. Grzyby DSE po wyizolowaniu bardzo rzadko wytwarzają konidia, nawet jeżeli zastosuje się specjalną procedurę (przechowywanie koloni na szalkach w temp 4°C przez 2 lata). Dotychczas nie udało się otrzymać stadia teleomorfy w hodowli. W związku z tym przynależność systematyczna tych grzybów była nieznana. Niemniej, dzięki metodom analizy sekwencji rybosomalnego DNA udało się określić przynależność tych grzybów do Erysiphales, Helotiales, Loculoascomycetes, Lecanorales i Eurotiales (SCHADT i współaut. 2001). Grzyby DSE występują pospolicie zarówno w górach, jak i na nizinach. Znanych jest już co najmniej 400 gatunków roślin, w których

stwierdzono obecność DSE. Rola ekologiczna tych grzybów jest jeszcze niezupełnie wyjaśniona. Relacje są rozbieżne, FERNANDO i CURRAH (1996) sądzą, że zwiększenie lub zmniejszenie wzrostu rośliny zależy od rodzaju korzeniowego endofita. JUMPPONEN (1998) odnotował zwiększenie biomasy liści *Pinus contorta* której korzenie zostały zainfekowane grzybnią *Ph. fortinii*. Przypuszcza się, że w niektórych sytuacjach, a zwłaszcza w górach, grzyby DSE mogą być uważane za mutualistyczne organizmy pełniące podobną rolę jak grzyby mikoryzowe. *Phialophora fortinii* jest najczęściej notowanym gatunkiem endofita w korzeniach wierzb biorących udział w początkowym stadium sukcesji w alpejskim ekosystemie. Przypuszcza się, że grzyby DSE mogą ułatwiać zaopatrzenie w azot roślin będących w stadium sukcesji i tym samym przyczyniają się do zwiększenia konkurencyjności takich roślin, zwłaszcza, że *Ph. fortinii* posiada enzymy biorące czynny udział w rozkładzie detrytusy (CURRAH i TSUNEDA 1993). Dzięki analizie fragmentów RAPD izolatów *Ph. fortinii* z 12 gatunków roślin wykazano istnienie znacznej zmienności fenotypów na stosunkowo niewielkim obszarze, co może świadczyć o możliwości dokonywania wielokrotnych kolonizacji roślin przez różne szczepy *Ph. fortinii* z różnych źródeł. Z kolei pojedyncze ramety (część osobnika klonalnego zdolna do samodzielnego życia) *Ph. fortinii* obejmowały niejednokrotnie różne, oddalone od siebie gatunki roślin. Studia nad grzybami DSE są bardzo obiecujące.

FROM PARASITISM TO MUTUALISM, LONG TERM INTERACTIONS CONSEQUENCE

S u m m a r y

There are described interaction between parasites and plants in nature and agrocenoses. *Neotyphodium* endophytes are described as symbionts which can be both, parasites and mutualists. Bacteria from the genus *Wolbachia* can be considered as microbial manipulator of arthropod reproduction. These so called

“male killers” can induce parthenogenesis in haplodiploid insects. Dark-septate endophytes (DSE) are ubiquitous fungus species noted in roots of many arcto-alpine plants. Its role is still not clearly known, but they may play an important role in early season nitrogen uptake.

LITERATURA

- ALPHEN VAN J., 2002. *Hotspots are rare in the evolution of parasitoid virulence and host resistance*. Trends Ecol. Evol. 17, 499.
- BONSALL M., 2002. *Evolutionary and ecological aspects of disease and parasitism*. Trends Ecol. Evol. 17, 401–403.
- CALLAINI G., DALLEI R., RIPARBELLI M. G., 1997. *Wolbachia induced delay of paternal chromatin condensation does not prevent maternal chromosomes from entering anaphase in incompatible crosses of Drosophila simulans* J. Cell. Sci. 110, 271–288.
- CHLEBICKI A., 2002a. *Koegzystencja i koewolucja: różne poziomy wzajemnych oddziaływań I. Grzyby wewnętrzne (endofity) i ich biologiczne znaczenie w procesie koewolucji*. Wiad. Bot. 46, 35–44.
- CHLEBICKI A., 2002b. *Graminicolous fungi from Poland 2. Interactions of internal fungi isolated from Puccinellia distans and their salt tolerance*. Polish Bot. J. 47, 243–249.
- CURRAH R. S., TSUNEDA A., 1993. *Vegetative and reproductive morphology of Phialophora fortinii (Hyphomycetes, Mycelium radialis atrovirens) in culture*. Trans. Myc. Soc. Jap. 34, 345–356.
- FAETH S. H., SULIVAN T. J., 2003. *Mutualistic asexual endophytes in a native grass are usually parasitic*. Am. Nat. 161, 310–325.
- FERNANDO A. A., CURRAH R. S., 1996. *A comparative study of the effects of the root endophytes Leptodontidium orchidicola (Mycelium Radialis Atrovirens complex): on the growth of some subalpine plants in culture*. Can. J. Bot. 74, 1071–1078.
- HARTIG M., WOLBACH S. B., 1924. *Studies on rickettsia-like micro-organisms in insects*. J. Med. Res. 44, 329–374.
- HUIGENS M. E., LUCK H. F., KLAASSEN R. H. G., MASS M. F. P. M., TIMMERMAN M. J. T. N., STOUTHAMER R., 2000. *Infectious partenogenesis*. Nature 405, 178–179.
- HURST G. D. D., JIGGIN F. M., 2000. *Male-killing bacteria in insects: mechanisms, incidence and implication*. Emerging Infect. Dis. 6, 329–331.
- JUMPPONEN A., 1999. *Spatial distribution of discrete RAPD phenotypes of a root endophytic fungus, Phialocephala fortinii, at a primary successional site on a glacier forefront*. New Phytologist 141, 333–344.
- JUMPPONEN A., MATTSON K., TRAPPE J. M., 1998. *Mycorrhizal functioning of Phialocephala fortinii: interaction with nitrogen and organic matter*. Mycorrhiza 7, 261–265.
- KOWALSKI T., 1998. *A study on Cenangium shoot die-back of Pinus sylvestris L. in Poland*. [W:] *Disease/environment interactions in forest decline*. HARTMANN G., TOMECZEK C., CECI T. L. (red.). Proceedings of a workshop of the IUFRO 7. 02. 06 working party, Vienna, March 16–21, Federal Forest Research Centre, 73–81.
- LAPCHIN L., 2002. *Host-parasitoid association and diffuse coevolution: when to be generalist*. Am. Nat. 160, 245–254.
- MEJIR G., LEUCHTMANN A., 2002. *The effects of genetic and environmental factors on disease expression (stroma formation) and plant growth in Brachypodium sylvaticum infected by Epichloë sylvatica*. Oikos 91, 446–458.
- MITCHELL, C. E., POWER, A. G. 2003. *Release of invasive plants from fungal and viral pathogens*. Nature 421, 625–627.
- PRELL H. H., DAY P. R. 2001. *Plant-fungal pathogen interaction. A classical and molecular view*. Springer, Berlin.
- RANDERSEN J. P., SMITH N. G. C., HURST L. D., 2000. *The evolutionary dynamics of male-killers and their hosts*. Heredity 84, 152–160.
- SCHADT CH., W., MULLEN R. B., SCHMIDT S. K. 2001. *Isolation and phylogenetic identification of a dark-septate fungus associated with the alpine plant Ranunculus adoneus*. New Phytologist 150, 747–755.
- STOUTHAMER R., BREENWER J. A. J., HUNT G. D. D., 1999. *Wolbachia pipiensis: microbial manipulator of arthropod reproduction*. Annu. Rev. Microbiol. 53, 71–102.
- YEN J. H., BARR A. R. 1971. *New hypothesis of the cause of cytoplasmic incompatibility in Culex pipiens L.* Nature 232, 657–658.