

Rasprostranjenost *Fusarium* vrsta prema korovu domaćinu i geografskoj lokaciji

Sažetak

Endofitne gljive žive unutar biljaka ne uzrokujući očite simptome bolesti. Korovi koji rastu u blizini poljoprivrednih polja mogu poslužiti kao alternativni domaćin ovih gljiva. Izolirali smo endofitne gljive iz 6 vrsta korova, uobičajenih za istočnu Hrvatsku te bez očitih simptoma bolesti: *Abutilon theophrasti*, *Amaranthus retroflexus*, *Ambrosia arthemisiifolia*, *Chenopodium album*, *Sorghum halepense* i *Xanthium strumarium*, s osam različitih lokacija. Determirali smo 11 vrsta roda *Fusarium*: *F. avenaceum*, *F. acuminatum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. semitectum*, *F. solani*, *F. subglutinans*, *F. venenatum* i *F. verticillioides*. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi vrstu gljiva i učestalost izolacije za svaki korov te geografsku rasprostranjenost. Pronašli smo značajnu razliku između mikoflore iste vrste korova prisutne na različitim lokacijama. Ovi rezultati sugeriraju da postoji veza između endofitnih gljiva, njihovog korova domaćina i staništa.

Ključne riječi: endofitne gljive, stanište, nalazište, simbioza, korov

Uvod

Korovi su odlična polazna točka za evolucijsku raspravu o odnosu biljaka i mikroorganizama. Korovi, samonikle biljke koje nisu specijalizirane za proizvodnju ljudske hrane, su nepoželjni u poljoprivredi, jer "krađu" hranjive tvari i vodu te služe kao alternativni domaćini patogenim vrstama. S druge strane, korovi su korisni čovjeku kao rezervoar divljih gena, otporni su na sve vrste okolišnih stresova i sposobni su preživjeti u najekstremnijim okruženjima. Kao takvi, korovi bi nam mogli dati odgovore na mnoga neriješena pitanja interakcije biljaka i mikroorganizama, a jedno od njih je simbioza. Postoji nekoliko različitih objašnjenja simbioze i općenito, to je interakcija između dva ili više organizama. Mišljenja među znanstvenicima su podijeljena i jedni smatraju da bi simbioza trebala uključivati samo obostrano korisne odnose, dok drugi smatraju da su simbiotske sve vrste bioloških interakcija. Činjenica je da se povijesno simbioza nije smatrala toliko važnom u usporedbi s drugim interakcijama kao što su predatorstvo ili natjecanje (Townsend et al. 1996). Darwin (1859) je izjavio da je optimalna kondicija biljke spori adaptivni proces temeljen na konkurenciji. Prema Saganu i Margulisu (1986) simbioza je glavna pokretačka snaga evolucije, a ne natjecanje kako je Darwin rekao. Po njihovom mišljenju, evolucija se snažno temelji na umrežavanju, uključujući suradnju, interakciju i uzajamnu ovisnost među organizmima. Danas se simbioza sve više prepoznaje kao važan selektivni alat evolucije (Moran, 2006; Wernegreen, 2004; Ryan, 2002) i mnoge vrste imaju dugu povijest međuovisne koevolucije (Ahmadjian i Paracer, 2000). Simbiotski organizmi, uglavnom gljive i bakterije, koji žive unutar biljaka nazivaju se endofiti.

Obično termin endofit znači da postoji međusobni odnos između uključenih organizama. Međutim, uloga endofita nije uvijek do kraja jasna, pa ih mnogi autori smatraju latentnim patogenima i saprofitima. Istraživanja endofita pokazuju da oni mogu imati značajniji utjecaj na biljke nego što se dosad vjerovalo. Glavni argument je da endofiti mogu promijeniti fiziologiju biljke i u nekim slučajevima poboljšati kondiciju biljke općenito, rast i razvoj biljke, toleranciju na stres i spolnu reprodukciju. Gundel i sur. (2013) idu korak dalje i nazivaju biljke s endofitima

¹ Izv. prof. dr. sc. Jelena Ilić, Nikolina Pilinger, mag. ing. agr., Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, V. Preloga 1, 31000 Osijek
Autor za korespondenciju: jilic@fazos.hr

simbiotički modificiranim organizmima (SMO). SMO je organizam čiji je fenotip modificiran uvođenjem ili promjenom simbiotskog mikroorganizma. Ako se vertikalno prenose s domaćina na potomke, SMO se mogu smatrati nasljednim svojstvima domaćina u uzgoju. Još jedna ključna komponenta simbioze je stanište u kojem se razvijaju sustavi biljke i mikroba. Pojam stanište uključuje nekoliko čimbenika: klimatske karakteristike geografskog položaja, pedološke i mikrobiološke karakteristike tla te antropološki utjecaj, odnosno čovjekov uzgoj biljaka koje uzgajaju u okolnom prostoru. Prema Rodriguezu i sur. (2008) gljivični endofiti osiguravaju intergenomski epigenetski mehanizam za prilagodbu biljaka na stres staništa. Redman i sur. (2002) ukazali su da simbioza prilagođena staništu može rezultirati otpornošću biljaka na stres unutar jedne vegetacijske sezone. Stoga bi simbioza prilagođena staništu mogla biti uobičajena ne-darvinistička pojava u biljnoj biologiji i važna je komponenta prilagodbe biljaka stresovima iz okoliša. Gotovo možemo biti sigurni da se biljke ne bi mogle prilagoditi staništima pod visokim stresom u nedostatku gljivičnih endofita te da mnoge vrste pozitivno utječu na porast biljka (Ilic i sur., 2017) i otpornost na biljne bolesti (Jelenić i sur., 2021). Dobro je poznato da biljni patogeni koriste korove koji rastu u blizini ili unutar poljoprivrednih polja kao alternativne domaćine za preživljavanje u nepovoljnim uvjetima (Postic i sur., 2012; Ilić 2023). To znači da će biljni patogeni pšenice, poput *F. graminearum*, živjeti kao endofitne gljive na korovu bez ispoljavanja simptoma bolesti.

Cilj ovog istraživanja je utvrditi rasprostranjenost i učestalost endofitnih *Fusarium* vrsta izoliranih iz šest vrsta korova i sa 8 lokaliteta u istočnoj Slavoniji.

Materijali i metode

Uzorci korova prikupljeni su na 8 lokacija u istočnoj Slavoniji, Hrvatska: Bobota (45°25'N, 18°51'E), Vukovar (45°20'N, 18°59'E), Sotin (45°29'N, 19°09'E), Opatovac (45°26'N, 19°17'), Osijek (46°7' N, 16°33'E), Tenja (45°29'N, 18°44'E), Karanac (45°29'N, 18°44'E), Bošnjaci (44°13'N, 16°36'E). Uzorkovane su sljedeće korovske vrste: *Abutilon theophrasti* Med.), *Amaranthus retroflexus* L., *Ambrosia arthemisiifolia* L., *Chenopodium album* L., *Sorghum halepense* (L.) Pers., *Xanthium strumarium* L.

Izolacija gljiva

Korijenje korova i donji dijelovi stabljike izrezani su na komade duljine 2-3 cm i širine 0,5-1 cm, površinski sterilizirani 1 minutu u 95% alkoholu, stavljeni na sterilni filter papir u Petrijeve zdjelice od 9 cm i držani u komorama za uzgoj tijekom 7 dana na 22°C i raspored dan/noć 12/12. Petrijeve zdjelice su pregledane i zalijevane svaki drugi dan, a one kontaminirane bakterijama ili neželjenim gljivičnim vrstama su odbačene. Pojedinačne spore micelija za koje se činilo da pripadaju *Fusarium* spp. odvojeni su mikro manipulatorom, prebačene na PDA (Difco) podloge i inkubirane na 22°C sedam dana po rasporedu 12/12 dan/noć.

Morfološka identifikacija

Morfologija spora iz kultura uzgojenih na Carnation Leaf Agar (CLA) na 22°C tijekom četrnaest dana po rasporedu 12/12 dan/noć (Leslie i Summerell, 2006) bila je osnova za morfološku identifikaciju. Konidije su karakterizirane kako su opisali Leslie i Summerell (2006). Također su korištene karakteristike rasta micelija na PDA, poput boje i gustoće micelija. Sojevi *Fusarium*-a pohranjeni su u 15% glicerolu na -70°C.

Molekularna identifikacija

Miceliji su uzgajani u potpunom tekućem mediju (Corell i sur., 1987) na orbitalnoj mučkalici (120 okretaja u minuti) dva dana na sobnoj temperaturi (25-28°C). Micelij je pohranjen na -70°C do mljevenja. DNK je ekstrahirana CTAB protokolom (Murray i Thompson, 1980) kako su ga modificirali Leslie i Summerell (2006). Početne molekularne identifikacije napravljene su na temelju AFLP (Vos et al. 1995) uzoraka traka, a AFLP reakcije su izvedene kako su opisali Zeller i sur. (2000). Amplifikacije napravljene s ETT/MAC parom početnica korištene su za iden-

tifikaciju. AFLP fragmenti su odvojeni u denaturirajućim 6% poliakrilamidnim gelovima (Long Ranger gel otopina, Bio-Whittaker Molecular Applications, Rockland, Maine) s 1× TBE. Gelovi su urađeni pri konstantnoj snazi od 90 W. Nakon toga gelovi su prebačeni na gel upijajući papir (Midwest Scientific, Valley Park, MO), osušeni i izloženi rendgenskom filmu na 25-28°C (Classic Blue Sensitive; Midwest Scientific, Valley Park, MO) na 3-7 dana. AFLP otisci ocjenjivani su ručno, "0" za odsutnost trake i "1" za prisutnost trake. Sekvencioniranje gena β -tubulina i faktora elongacije faktora translokacije 1 α provedeno je za svaki reprezentativni soj i za pojedinačne sojeve. QIAquick PCR Purification Kit (50) (QIAGEN Sciences, Valencia, CA) korišten je za pročišćavanje DNA. Sekvenciranje je učinjeno u Advanced Genetic Technologies Center (Lexington, KY, SAD). Dobivene sekvence su poravnate i uspoređene sa sekvencama dostupnim iz NCBI baze podataka pomoću BLAST programa (Basic Local Alignment Search Tool). U obzir su uzeti samo izolati sa sličnošću sekvenci od \geq 99% sa sekvencama baze podataka.

Rezultati

Devedeset jedan (91) gljivični izolat je izoliran iz uzorkovanih korova. Morfološkom i molekularnom identifikacijom utvrđeno je 11 *Fusarium* vrsta: *Fusarium acuminatum* Ellis & Everhart, *Fusarium avenaceum* (Fries) Saccardo, *Fusarium equiseti* Saccardo, *Fusarium graminearum* Schwabe, *Fusarium oxysporum* Schlechtendahl emend. Snyder & Hansen, *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg, *Fusarium semitectum* Berkeley & Ravenel, *Fusarium solani* (Martius) Appel & Wollenweber emend. Snyder & Hansen, *Fusarium subglutinans* (Wollenweber & Reinking) Nelson, Toussoun & Marasas, *Fusarium venenatum* Nirenberg i *Fusarium verticillioides* (Saccardo) Nirenberg. *F. oxysporum* bila je najčešće izolirana vrsta (36,2 %), zatim *F. verticillioides* (13,2 %), *F. graminearum* (11 %), *F. proliferatum* (11 %), *F. subglutinans* (7,7 %) i *F. solani* (7,7 %). Rjeđe otkrivene vrste uključuju: *F. acuminatum* (3,3 %), *F. equiseti* (3,3 %), *F. avenaceum* (2,2 %), *F. semitectum* (2,2 %) i *F. venenatum* (2,2 %). *F. oxysporum* je izdvojen iz 6 od 6 vrsta korova, a slijede *F. graminearum* i *F. subglutinans*, koji su izdvojeni iz 5 od 6 vrsta korova. Što se tiče korova, 21 izolat potječe iz *A. theophrasti*, 20 iz *S. halepense*, 19 iz *C. album*, 14 iz *X. strumarium*, 9 iz *A. retroflexus*, 8 iz *A. artemisiifolia* (Tablica 1). *A. theophrasti* i *S. halepense* su dali najveći broj izolata *Fusarium* u odnosu na sve korove. Od 8 lokaliteta najveći broj izolata pronađen je na lokalitetu Bobota (43), a zatim Opatovac (26) (Tablica 2). Najrasprostranjenija vrsta *Fusarium* prema lokalitetu bila je *F. verticillioides*, koja je izolirana na 6 od 8 lokacija. *F. graminearum*, *F. oxysporum* i *F. subglutinans* izolirani su sa 4 lokacije svaki. Interakcija sva tri aspekta ovog istraživanja može se vidjeti u Tablici 3.

Tablica 1. Rasprostranjenost *Fusarium* vrsta prema korovnom domaćinu

Table 1. Distribution of *Fusarium* species according to the weedy host

	<i>A. artemisiifolia</i>	<i>A. retroflexus</i>	<i>A. theophrasti</i>	<i>C. album</i>	<i>S. halepense</i>	<i>X. strumarium</i>	Uk.
<i>F. acuminatum</i>	1		1			1	3
<i>F. avenaceum</i>		1		1			2
<i>F. equiseti</i>	1		1			1	3
<i>F. graminearum</i>		2	1	2	3	2	10
<i>F. oxysporum</i>	4	1	9	7	9	3	33
<i>F. proliferatum</i>			3	3		4	10
<i>F. semitectum</i>		1	1				2
<i>F. solani</i>			2	1	4		7
<i>F. subglutinans</i>	2	1	2	1		1	7
<i>F. venenatum</i>		1	1				2
<i>F. verticillioides</i>		2		4	4	2	12
Uk.	8	9	21	19	20	14	91

Tablica 2. Učestalost *Fusarium* vrsta prema lokaciji
Table 2. Frequency of *Fusarium* species by location

<i>Fusarium</i> spp.	1	2	3	4	5	6	7	8	Tot
<i>F. acuminatum</i>	1			2					3
<i>F. avenaceum</i>	1	1							2
<i>F. equiseti</i>	1		1	1					3
<i>F. graminearum</i>	3			2	1	3	1		10
<i>F. oxysporum</i>	20		1	11		1			33
<i>F. proliferatum</i>	2			7			1		10
<i>F. semitectum</i>	1					1			2
<i>F. solani</i>	5				2				7
<i>F. subglutinans</i>	4		1	1		1			7
<i>F. venenatum</i>	-		1			1			2
<i>F. verticillioides</i>	5	1		2		1	2	1	12
Ukupno:	43	2	4	26	3	8	4	1	91

1. Bobota, 2. Vukovar, 3. Tenja, 4. Karanac, 5. Bošnjaci, 6. Opatovac, 7. Sotin, 8. Osije

Tablica 3. Rasprostranjenost *Fusarium* vrsta prema korovu i lokaciji
Table 3. Distribution of *Fusarium* species according to weeds and location

	Bobota	Vukovar	Tenja	Karanac	Bošnjaci	Opatovac	Sotin	Osijek
<i>A. artemisiifolia</i>	<i>F. acu</i> <i>F. oxy</i> <i>F. sub</i>			<i>F. equ</i> <i>F. oxy</i>		-	-	
<i>A. retroflexus</i>	<i>F. ave</i>			<i>F. ver</i> <i>F. oxy</i>		<i>F. gra</i> <i>F. sem</i> <i>F. sub</i> <i>F. ven</i> <i>F. ver</i>	-	
<i>A. theoprasti</i>			<i>F. equ</i> <i>F. oxy</i> <i>F. sub</i> <i>F. ven</i>	<i>F. acu.</i> <i>F. oxy</i> <i>F. pro</i> <i>F. gra</i> <i>F. sub</i>	<i>F. sol</i>	-	-	
<i>C. album</i>	<i>F. oxy</i> <i>F. pro</i> <i>F. sol</i> <i>F. sub</i> <i>F. ver</i>	<i>F. ave</i>				<i>F. oxy</i> <i>F. gra</i>	<i>F. gra</i> <i>F. pro</i> <i>F. ver</i>	
<i>S. halepense</i>	<i>F. gra</i> <i>F. oxy</i> <i>F. sol</i> <i>F. ver</i>	<i>F. ver</i>			<i>F. gra</i>			<i>F. ver</i>
<i>X. strumarium</i>	<i>F. equ</i> <i>F. gra</i> <i>F. oxy</i> <i>F. ver</i> <i>F. sub</i>			<i>F. acu</i> <i>F. gra</i> <i>F. oxy</i> <i>F. pro</i> <i>F. ver</i>				

F. acu – *F. acuminatum*, *F. ave* – *F. avenaceum*, *F. equ* – *F. equiseti*, *F. gra* – *F. graminearum*, *F. oxy* – *F. oxysporum*, *F. pro* – *F. proliferatum*, *F. sem* – *F. semitectum*, *F. sol* – *F. solani*, *F. sub* – *F. subglutinans*, *F. ven* – *F. venenatum*, *F. ver* – *F. verticillioides*

*Podebljana slova označavaju *Fusarium* sp. prisutan samo na jednom mjestu na istoj vrsti korova. Podvučena slova označavaju *Fusarium* sp. prisutne na više od jedne lokacije iste vrste korova./ Bold letters indicate *Fusarium* sp. present in only one location on the same weed species. Underlined letters indicate *Fusarium* sp. present in more than one location of the same weed species.

Rasprava

Prema našim rezultatima postoji varijacija u mikopopulaciji iste vrste korova prikupljene na različitim lokacijama. To može biti rezultat nekoliko čimbenika: klime, tla, biljke domaćina, lokacije i poljoprivredne proizvodnje. Lokacije su međusobno udaljene, ali na globalnoj razini udaljenosti su minimalne, a klimatske razlike nisu značajne. Na svakoj lokaciji postoje određene varijacije u pedološkim karakteristikama, no teško je reći kolika je njihova važnost u našem slučaju, jer su sakupljene korovske vrste uobičajene za područje istočne Hrvatske, obilno rastu u različitim uvjetima i mogu se vrlo često naći na raznim lokacijama. Po našem mišljenju glavne razlike koje su utjecale na mikofloru korova su kultivirane biljke koje se uzgajaju na tom području. Nažalost, kultivirane biljke uzgojene u vrijeme našeg eksperimenta u blizini sakupljenog korova nisu zabilježene. Ipak, samo nekoliko kultiviranih biljaka uglavnom se uzgaja na ovom području: pšenica i kukuruz su najčešći, a slijede ih šećerna repa, suncokret, ječam, soja i uljana repica. Od 11 izoliranih *Fusarium* vrsta, 9 su poznati uzročnici bolesti kulturnih biljaka. Među njima, *F. graminearum* je poznati biljni patogen koji uzrokuje mnoge bolesti usjeva, a najznačajnija je palež klasa. Nađen je na 4 od 8 lokacija i na 5 od 6 vrsta korova. *F. verticillioides*, *F. subglutinans* i *F. proliferatum* su patogeni kukuruza (Logrieco i sur. 1995.; Svitlica i sur. 2008.; Duncan i Howard, 2010.). *F. solani* uzrokuje sindrom iznenadne smrti (SDS) kod soje, koji se očituje kao rana defolijacija i smrt biljke soje (Hosseini i sur., 2023). *F. acuminatum*, *F. semitectum* i *F. avenaceum* također mogu biti patogeni (Leslie i Summerell 2006). *F. verticillioides* i *F. oxysporum* mogu biti saprofiti i uobičajene su komponente mikroorganizama tla. No, mogu biti i patogeni i uzrokovati bolesti biljaka, obično vaskularnih tkiva (Lević, 2008). Izolirani su sa 6 odnosno 4 lokacije i najčešće su izolirane *Fusarium* vrste u našim istraživanjima. Iako se čini da je *F. oxysporum* česta vrsta na mnogim lokacijama i vrstama korova, njezinu prisutnost treba dublje objasniti. *F. oxysporum* je vrsta poznata po svojoj sklonosti specijalizaciji prema određenim kultiviranim vrstama i evoluciji u formae specialis. Danas je poznato više od 100 formae specialis. Pokušali smo utvrditi neku specijalizaciju naših izolata kroz testove vegetativne kompatibilnosti (Ilić i sur., 2013), ali je zabilježena vrlo niska razina kompatibilnosti među našim izolatima *F. oxysporum* iz korova. Moguće je da korovi sadrže vrlo raznolike formae specialis *F. oxysporum* i na taj način pokazuju dodatnu razinu raznolikosti gljiva. *F. venenatum* je vrsta koja se ne nalazi uobičajeno na ovom području i ovo je bilo prvo izvješće o njenom otkriću (Postić i sur., 2012). U našim prethodnim istraživanjima pokazao se kao patogen za pšenicu i kukuruz (Ilić i sur., 2012). Davis i Shaw (2008) istraživali su je li raznolikost endofita povezana s geografskom lokacijom domaćina. Sakupili su korove u Njemačkoj, SAD-u i Novom Zelandu te identificirali endofite. Njihovi rezultati sugeriraju da su zajednice endofita istog korova raznolike. Korovi iz istih zemljopisnih područja imali su više sličnih endofita u usporedbi s istim korovima u različitim područjima. Prema njima, geografska udaljenost uzrokuje većinu razlika među zajednicama. U našem istraživanju pokrili smo puno manje geografsko područje, a ipak uočili razlike u endofitnim gljivama koje nastanjuju istu korovnu vrstu i rastu na različitim geografskim mjestima. Pokrivena geografska područja, iako prilično blizu na karti, općenito su bila utočište različitim endofitnim gljivama. Hoffman i Arnold (2008) ispitivali su endofite povezane s tri blisko povezane vrste drveća (*Coniferales*): dvije autohtone vrste unutar njihovih prirodnih područja rasprostranjenja (*Juniperus virginiana* u Sjevernoj Karolini; *Cupressus arizonica*, Arizona)

i alohtona vrsta (*Platyclusus orientalis*). Od 960 segmenata tkiva, endofiti su pronađeni u 229 i predstavljali su najmanje 35 vrsta *Ascomycota*. Različiti rodovi endofita dominirali su skupinama svake kombinacije vrste domaćina/lokaliteta. Odredili su važnost geografije i identiteta domaćina u oblikovanju endofitne zajednice određene biljke. U'Ren i sur. (2012) proučavali su 4154 endofitne gljive koje se pojavljuju u zdravim tkivima biljaka i lišajeva na pet sjevernoameričkih lokacija koristeći molekularne podatke. Gljive iz blisko povezanih domaćina iz različitih regija bile su slične u višoj taksonomiji, ali različite na nižim taksonomskim razinama. U njihovom istraživanju klimatski čimbenici imali su veći utjecaj u odnosu na geografsku udaljenost. U usporedbi s njihovim istraživanjem, naše je istraživanje klimatski obuhvatilo malo geografsko područje, stoga je malo vjerojatno da je klima značajno utjecala na našu gljivičnu raznolikost. Langenfeld i sur. (2013) proučavali su učinak geografije na sastav zajednice endofita i ispitivali lisne i stabljične endofite *Cephalotaxus harringtonia* u Japanu i Francuskoj. Nije bilo gotovo nikakvog preklapanja između skupova endofita *C. harringtonia* iz dviju zemalja. Najzanimljiviji dio našeg istraživanja bila je distribucija vrste *Fusarium* na istoj korovnoj vrsti s različitih lokacija. Dok su neke vrste gljiva, poput *F. oxysporum* i *F. verticillioides*, imale ponavljajući uzorak, pojavljujući se na nekoliko lokacija, a na istoj vrsti korova, druge su bile specifične za određenu lokaciju. Budući da su sve lokacije u našim istraživanjima imale različite poljoprivredne uvjete, pretpostavlja se da su kultivirane biljke uzgojene na poljima u blizini sakupljenih korova imale veliki utjecaj na mikofloru korova, jer je iz korova izolirano nekoliko vrsta gljivica patogenih za pšenicu, kukuruz, soju i druge kultivirane biljke.

Zaključak

Iz navedenog se može zaključiti da je velika vjerojatnost postojanja različitog mikrobiološkog sastava istih vrsta korova na različitim geografskim lokacijama. U budućnosti bismo svaku biljku mogli vidjeti kao jedan samodostatni biljni ekosustav ili strukturu koju određuju genetička biljke, njezini uvjeti rasta i mikroorganizmi (Wearn i sur. 2013; Ji i sur., 2022).

Literatura

- Ahmadjian, V., Paracer, S. (2000) *Symbiosis: an introduction to biological associations*. University Press, Oxford.
- Corell, J.C., Klittich, C.J.R., Leslie, J.F. (1987) Nitrate non-utilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests. *Phytopathology* 77:1640-1646.
- Darwin, C. (1859) *On the origin of species by means of natural selection*. John Murray, London.
- Davis, E.C., Shaw, A.J. (2008) Biogeographic and phylogenetic patterns in diversity of liverwort-associated endophytes. *Am J Bot* 95:914-24.
- Duncan, K. E., & Howard, R. J. (2010) Biology of maize kernel infection by *Fusarium verticillioides*. *Molecular plant-microbe interactions*, 23(1), 6-16.
- Gundel, P.E., Perez, L.I., Helander, M., Saikkonen, K. (2013) Symbiotically modified organisms: nontoxic fungal endophytes in grasses. *Trends in Plant Science* 18:420-427.
- Hoffman, M.T., Arnold, A.E. (2008) Geographic locality and host identity shape fungal endophyte communities in cupressaceous trees. *Mycol Res* 112:331-44.
- Hosseini, B., Voegelé, R. T., Link, T. I. (2023) Diagnosis of Soybean Diseases Caused by Fungal and Oomycete Pathogens: Existing Methods and New Developments. *Journal of Fungi*, 9(5), 587.
- Ilic, J., Cosic, J., Jurkovic, D., Vrandecic, K. (2012) Pathogenicity of *Fusarium* spp. isolated from weeds and plant debris in eastern Croatia to wheat and maize. *Poljoprivreda* 18:7-11.
- Ilic, J., Cosic, J., Jurkovic, D., Vrandecic, K. (2013) Vegetative compatibility of *Fusarium oxysporum* isolated from weeds in eastern Croatia. *Poljoprivreda* 19:20-24.
- Ilic, J., Cosic, J., Vrandecic, K., Dugalic, K., Pranjić, A., Martin, J. (2017) Influence of endophytic fungi isolated from symptomless weeds on cherry plants. *Mycosphere* 8(1): 18-30.
- Ilic, J. (2023) The role of weeds as a source of beneficial microorganisms. *Eur J Plant Pathol*
- Jelenic, J., Cosic, J., Velki, M., Ilic, J. (2021) Endophytic *Fusarium* spp. affect yield, but can they be a solution for Botrytis control in vineyard production?. *Fungal Ecology*, 54, 101114.
- Ji, X., Xia, Y., Zhang, H., Cui, J. L. (2022) The microscopic mechanism between endophytic fungi and host plants: From recognition to building stable mutually beneficial relationships. *Microbiological Research*, 127056.
- Langenfeld, A., Prado, S., Nay, B., Craud, C., Lacoste, S., Bury, E., ... Dupont, J. (2013) Geographic locality greatly influences fungal endophyte communities in *Cephalotaxus harringtonia*. *Fungal Biology*, 117(2), 124-136.
- Leslie, J. F., Summerell, B. A. (2008) *The Fusarium laboratory manual*. John Wiley & Sons.
- Levic, J. (2008) Vrste roda *Fusarium*. Beograd: Cicero, Beograd.

- Logrieco, A., Moretti, A., Ritieni, A., Bottalico, A., Corda, P. (1995) Occurrence and toxigenicity of *Fusarium proliferatum* from preharvest maize ear rot, and associated mycotoxins, in Italy. *Plant Dis* 79:727–731.
- Moran, N.A. (2006) Symbiosis. *Current Biology* 16:866–871.
- Murray, M.G., Thompson, W.F. (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acid Res* 8:4321–4325.
- Postic, J., Cosic, J., Vrandecic, K., Jurkovic, D., Saleh, A. A., Leslie, J. F. (2012) Diversity of *Fusarium* species isolated from weeds and plant debris in Croatia. *Journal of phytopathology*, 160(2), 76–81.
- Redman, R. S., Sheehan, K. B., Stout, R. G., Rodriguez, R. J., Henson, J. M. (2002) Thermotolerance generated by plant/fungal symbiosis. *Science*, 298(5598), 1581–1581.
- Rodriguez, R. J., Henson, J., Van Volkenburgh, E., Hoy, M., Wright, L., Beckwith, F., ... Redman, R. S. (2008) Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *The ISME journal*, 2(4), 404–416.
- Ryan, F. (2002) *Darwin's blind spot: evolution beyond natural selection*. Houghton Mifflin Company, Boston.
- Sagan, D., Margulis, L. (1986) *Origins of sex: three billion years of genetic recombination*. Yale University Press, New Haven, Conn.
- Svitlica, B., Cosić, J., Šimić, B., Jurković, D., Vrandečić, K., Purar, B., Telić, T. (2008) Pathogenicity of *Fusarium* species to maize ears. *Cereal Research Communications*, 36, 543–544.
- Townsend, C.R., Begon, M., Harper, J.D. (1996) *Ecology: individuals, populations and communities*. Blackwell Science, Oxford
- U'Ren, J. M., Lutzoni, F., Miadlikowska, J., Laetsch, A. D., Arnold, A. E. (2012) Host and geographic structure of endophytic and endolichenic fungi at a continental scale. *American journal of botany*, 99(5), 898–914.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, T. V. D., Hornes, M., ... Zabeau, M. (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic acids research*, 23(21), 4407–4414.
- Wearn, J.A., Sutton, B.C., Morley, N.J., Gange, A.C (2013) Species and organ specificity of fungal endophytes in herbaceous grassland plants. *J Ecol* 100:1085–1092.
- Wernegreen, J.J. (2004) Endosymbiosis: lessons in conflict resolution. *PLoS Biology*, 2(3):e68.
- Zeller, K.A., Jurgenson, J.E., El-Assiuty, E.M., Leslie, J.F. (2000) Isozyme and amplified fragment length polymorphism from *Cephalosporium maydis* in Egypt. *Phytoparasitica* 28:121–130.

Prispjelo/Received: 11.6.2023.

Prihvaćeno/Accepted: 27.6.2023.

Original scientific paper

Distribution of *Fusarium* species by weed host and geographic location

Abstract

Endophytic fungi live within plants without causing obvious disease symptoms. Weeds growing near agricultural fields can harbor these fungi and serve as alternative hosts. We isolated endophytic fungi from 6 species of symptomless weeds common to eastern Croatia: velvetleaf (*Abutilon theophrasti*), redroot amaranth (*Amaranthus retroflexus*), annual ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*), lambsquarters (*Chenopodium album*), Johnsongrass (*Sorghum halepense*) and rough cocklebur (*Xanthium strumarium*), from eight different locations and identified 11 *Fusarium* species inhabiting them: *F. avenaceum*, *F. acuminatum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. semitectum*, *F. solani*, *F. subglutinans*, *F. venenatum* and *F. verticillioides*. The aim of this research was to determine fungal species and frequency of isolation for each weed, together with geographical distribution. We have found a significant difference between mycoflora of the same weed species present at different locations. These results suggest that there is a link between endophytic fungi, its weed host and habitat.

Key words: endophytic fungi, habitat, location, symbiosis, weed