Mykobiom endosfery pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.) i jego charakterystyka w ujęciu sposobu transmisji grzybów endofitycznych i ich wpływu na reakcje odpornościowe pszenicy

Mikroorganizmy, a w tym grzyby odgrywają ważną rolę w prawidłowym rozwoju i funkcjonowaniu rośliny. Choć interakcje te mogę wydawać się bezobjawowe, to obecność mikroorganizmów poprawia zdolności adaptacyjne rośliny do środowiska, w którym żyje i jego zmian. Grzyby pełnią istotną rolę w naturalnych ekosystemach. Te, które występują w wewnętrznych tkankach roślin, nie wywołując symptomów chorobowych określa się endofitami. Interakcje między grzybami endofitycznymi a rośliną gospodarzem są niezwykle złożone, a ich skutki zróżnicowane. Jednoznaczne określenie funkcji (komensalna, patogeniczna, symbiotyczna) endofitów w roślinie jest trudne, ponieważ ten sam gatunek grzybów, w zależności od warunków środowiskowych, może zmieniać swój styl życia i przejść z patogena do komensala czy odwrotnie. Zaobserwowano występowanie grzybów endofitycznych w tkankach pszenicy. Ich obecność wpływała na zmniejszenie podatności na stresy biotyczne i abiotyczne czy pozytywnie wpływała na wzrost i rozwój roślin. Obecna wiedza na temat grzybów endofitycznych w pszenicy opiera się na badaniach prowadzonych w wąskim zakresie warunków doświadczalnych, w tym genotypów pszenicy, organów roślinnych, stadium rozwoju rośliny czy warunków środowiskowych. Celem pracy doktorskiej było poznanie struktury i czynników determinujących skład gatunkowy grzybów zasiedlających endosferę pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.) oraz zbadanie wpływu zmian zachodzących w mykobiomie endosfery pszenicy na ekspresję wybranych genów roślinnych.

W przedstawionej pracy badano dziesięć polskich odmian pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.): pięć formy jarej: Arabella, Bombona, Kandela, Rospuda i Rusałka i pięć formy ozimej: Arkadia, Bamberka, Euforia, Legenda i Ostroga. Wykonano cztery doświadczenia ściśle ze sobą powiązane. w wyniku badań wyizolowano z endosfery polskich odmian pszenicy zwyczajnej 879 izolatów grzybów, z czego molekularnie zidentyfikowano 828, a na poziomie gatunku 521. w endosferze pszenicy wzrastającej w warunkach kontrolowanych (generacja G1 i G2) i polowych zidentyfikowano 85 następujących rodzajów/gatunków grzybów. Celem Doświadczenia nr 1 było określenie różnorodności i zmian w składzie społeczności grzybów wyizolowanych z endosfery roślin, uwarunkowanych odmianą pszenicy, organem roślinnym i warunkami wzrostu. Zidentyfikowano 28 gatunków lub rodzajów grzybów endofitycznych wyizolowanych z roślin uprawianych w warunkach szklarniowych, 35 gatunków lub rodzajów

endofitów wyizolowanych z roślin rosnących na polu, uprawianych w systemie ekologicznym oraz 52 gatunki/rodzaje grzybów wyizolowanych z roślin uprawianych w systemie tradycyjnym. Doświadczenie nr 2 polegało na wykonaniu testów antagonistycznych w bikulturach, wykorzystując następujące szczepy grzybów: *T. viride* E80, *T. koningii* E191, *T. hamatum* E81, *P. olsonii* E69_1, *P. expansum* E193, *P. crustosum* E106, *S. spinificis* E11, *S. strictum* E22, F. *proliferatum* E202, *P. album* E35, *C. candelabrum* E83, *N. golenkoana* E208. Obliczono procent zahamowania wzrostu dla wszystkich badanych szczepów w 5 dniu koinkubacji. Analiza wyników wykazała wpływ badanych szczepów na siebie. Doświadczenie nr 3 polegało na analizie składu społeczności grzybów w dwóch generacjach roślin G1 i G2 wzrastających w warunkach szklarniowych, a także w aksenicznych siewkach pszenicy traktowanych wyselekcjonowanymi na podstawie wyników uzyskanych w Doświadczeniu nr 2 szczepami grzybów, mieszaniną tych grzybów oraz wodą sterylną jako kontrolą. w pokoleniu G2 wyizolowano i zidentyfikowano prawie 3-krotnie mniej izolatów niż w pokoleniu G1. Tylko 9 gatunków/rodzajów grzybów endofitycznych było wspólnych dla obydwu pokoleń, a były to: *Fusarium sp., F. proliferatum, T. koningii, A. lecanii, Trichoderma sp., P. crustosum, T. hamatum, P. olsonii, Cladosporium sp.* Analiza porównawcza składu mykobiomu dwóch generacji roślin pszenicy G1 i G2 wykazała, że F. *proliferatum* występuje we wszystkich odmianach pszenicy ozimej i w obydwu badanych pokoleniach. Oprócz F. *proliferatum* w obydwu generacjach zaobserwowano występowanie *A. lecanii* w odmianie Legenda i *T. koningii* w odmianie Euforia. Natomiast grzyby z rodzaju *Trichoderma* zidentyfikowano w dwóch generacjach jedynie w pszenicy odmiany Bombona. Siedem dni po traktowaniu 14-dniowych siewek aksenicznych pszenicy wybranymi endofitami dokonano identyfikacji molekularnej re-izolowanych szczepów grzybów. w tym celu przeprowadzono analizę porównawczą sekwencji nukleotydowych odpowiednich markerów filogenetycznych dla wyizolowanych grzybów z sekwencjami nukleotydowymi uzyskanymi wyjściowo po pierwotnej izolacji badanych endofitów z tkanek pszenicy. Analiza porównawcza sekwencji wykazała, że szczepy F. *proliferatum, P. olsonii, P. expansum* i *T. hamatum* były zdolne do ponownego zasiedlenia tkanek badanych odmian pszenicy. Doświadczenie nr 4 miało na celu analizę ekspresji wybranych genów pszenicy po 7 dniach od traktowania roślin zawiesiną F. *proliferatum* E202, *P. olsonii* E69_1, *P. expansum* E193, *T. hamatum* E81 oraz mieszaniną tych grzybów. Do analiz wybrano gen *HSP70* kodujący białko szoku cieplnego, *PR9* kodujący peroksydazę oraz *SOD* kodujący dysmutazę ponadtlenkową. Zaobserwowano, że ekspresja badanych genów (*SOD, PR9, HSP70*) zależy od genotypu rośliny/odmiany jak również gatunków grzybów, którymi rośliny były traktowane.