

# **HODOWLANE MOŻLIWOŚCI WYKORZYSTANIA GRZYBÓW ENDOFITYCZNYCH w TRAWACH**

**Dr hab. Barbara Wiewióra**

**Prof. nadzwyczajny IHAR – PIB,  
Zakład Nasiennictwa i Nasionoznawstwa, Radzików**



# Plan prezentacji

- Endofity - ogólna charakterystyka...
- Występowanie endofitów w roślinach ...
- Możliwości produkowania ergowaliny...
- Zasiedlenie nasion...
- Przeżywalność w czasie przechowywania...
- Podatność na stresy środowiskowe...
- Podsumowanie badań.....



- **Grzyby endofityczne to mikroorganizmy, które część lub całe swoje życie zasiedlają bezobjawowo tkanki swoich gospodarzy.**
- **Do typowych endofitów zaliczane są gatunki z rodzaju *Neotyphodium* takie jak:**
  - ***N. lolii* Latch, Christensen & Samuels** współżyjące z *Lolium perenne*,
  - ***N. coenophialum* Morgan-Jones & Gams** występujące w roślinach *Festuca arundinacea*,
  - ***N. uncinatum* Gams, Petroni & Schmidt** zasiedlające *F. pratensis*.



- Są również doniesienia o zasiedlaniu gatunków w rodzajach: *Bromus*, *Agrostis*, *Elymus*, *Anthoxanthum*, *Deschampsia*, *Koeleria*, *Holcus* oraz *Phleum pratense* i *Poa pratensis* występujących na naturalnych użytkach.

Ogólnie szacuje się że ok. 290 gatunków traw może być zasiedlanych przez endofity (Leuchtmann,1992). W skali całego świata zasiedlane może być od 20 – 30% gatunków traw.



Grzyby te przenoszone są z nasionami, a ich grzybnia zasiedla głównie warstwę aleuronową ... (White, 1987; Siegel i in., 1985)



Charakterystycznie poskręcana grzybnia

*Neotyphodium* sp. widoczna w warstwie aleuronowej ziarniaka

# **Współżycie traw z grzybami endofitycznymi ma aspekty dodatnie i ujemne.**

- Endofity przynoszą trawom wiele korzyści, wzbudzając np. mechanizmy tolerancji na suszę oraz regeneracji uszkodzeń po długotrwałej suszy, jak również wpływają na oszczędną gospodarkę azotem i lepszą przyswajalność fosforu (Malinowski i Belesky, 2000). Poza tym trawy zasiedlone przez endofity są odporne na szkodniki, nicianie oraz niektóre choroby (Siegel i in., 1985).
- Jednak obecność endofitów w roślinach może stanowić zagrożenie dla zwierząt roślinożernych. Stwierdzono, że niektóre z wytwarzanych przez te grzyby alkaloidów są toksyczne, a ich nagromadzenie w paszy może wpływać na stan zdrowotny zwierząt gospodarskich (Siegel i in., 1985).

- Szkodliwość endofitów związana jest z wytwarzanymi przez te grzyby **alkaloidami**:
  - alkaloidy ergotynowe (klawiny, kwas lizergowy i jego amidy, ergopeptyny),
  - nasycone aminopirolopirazyny (lolin), indolditerpenoidy (lolitrem) (diterpeny indolu, paxilina, paxitriole, lolitriol),
- alkaloidy pirolopirazynowe (peramina, która posiada właściwości odstraszające owady, jednocześnie nie wpływa ujemnie na zdrowotność zwierząt roślinożernych).



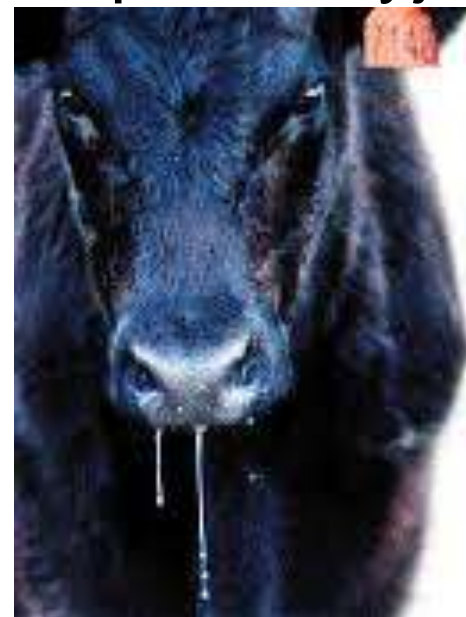
- Mogą one wpływać zarówno na bezkręgowce (głównie *peramina*), jak i kręgowce (głównie *lolitrem B* i *ergowalina*), w tym bydło (Siegel i in., 1990; Stuedemann i Hoveland, 1988), dla którego są toksyczne i powodują stany chorobowe, a nawet mogą stanowić duże zagrożenie dla życia.
- Znane są dwie groźne choroby u bydła, których czynnikiem sprawczym są alkaloidy wytwarzane przez endofity współżyjące z trawami na pastwiskach: “*ryegrass staggers syndrome*” i “*fescue toxicosis*” (Siegel i in., 1985).





## „*Fescue toxicosis*” (Cross, 2000; Ball, 2007)

- objawy to zmniejszone pobieranie paszy, mniejszy przyrost masy ciała, obniżona produkcja mleka, wzrost temperatury ciała, wzmożone pocenie się i ślinienie czy obniżenie wydajności reprodukcyjnej



- odpowiedzialne są alkaloidy ergotynowe produkowane przez endofity zasiedlające kostrzewę trzcinową i życicę trwałą, odpowiednio *N. coenophialum* i *N. lolii*.

# „*Ryegrass staggers syndrome*”

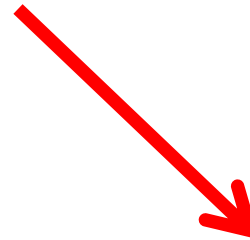
(Malinowski i Belesky, 2000)

- objawy to spadek produkcji mleka (6%–15%) i obniżenie wagi ciała, atakuje układ nerwowy zwierząt powodując jego niesprawność, której częstym objawem jest paraliż tylnych kończyn.



- związana z obecnością lolitremu, który jest wytwarzany przez endofity zasiedlające głównie życicę trwałą - *N. lolii*.

# **HODOWLA TRAW ZASIEDLONYCH PRZEZ ENDOFITY**



- wprowadzanie do roślin endofitów wpływających na zwiększenie odporności na stresy biotyczne i abiotyczne (w trawach przeznaczonych do celów trawnikowych)

- wprowadzanie do roślin endofitów wytwarzających alkaloidy podnoszące odporność traw na stresy biotyczne, jednocześnie nie wywołujących chorób u zwierząt hodowlanych (w trawach pastewnych)

# **NASZE BADANIA DOTYCZĄCE ENDOFITÓW TRAW**

- ocena występowania endofitów w nasionach odmian i rodów oraz w roślinach traw zbiorowisk trawiastych w Polsce,
- zbadanie przeżywalności endofitów w nasionach po przechowywaniu w różnych warunkach środowiska oraz ocena przydatności wybranych metod ich eliminacji,
- określenie zdolności endofitów występujących w ekotypach polskich traw do produkowania szkodliwego alkaloidu – ergowaliny,
- ocena przydatności zasiedlonych przez te grzyby ekotypów w hodowli traw gazonowych.

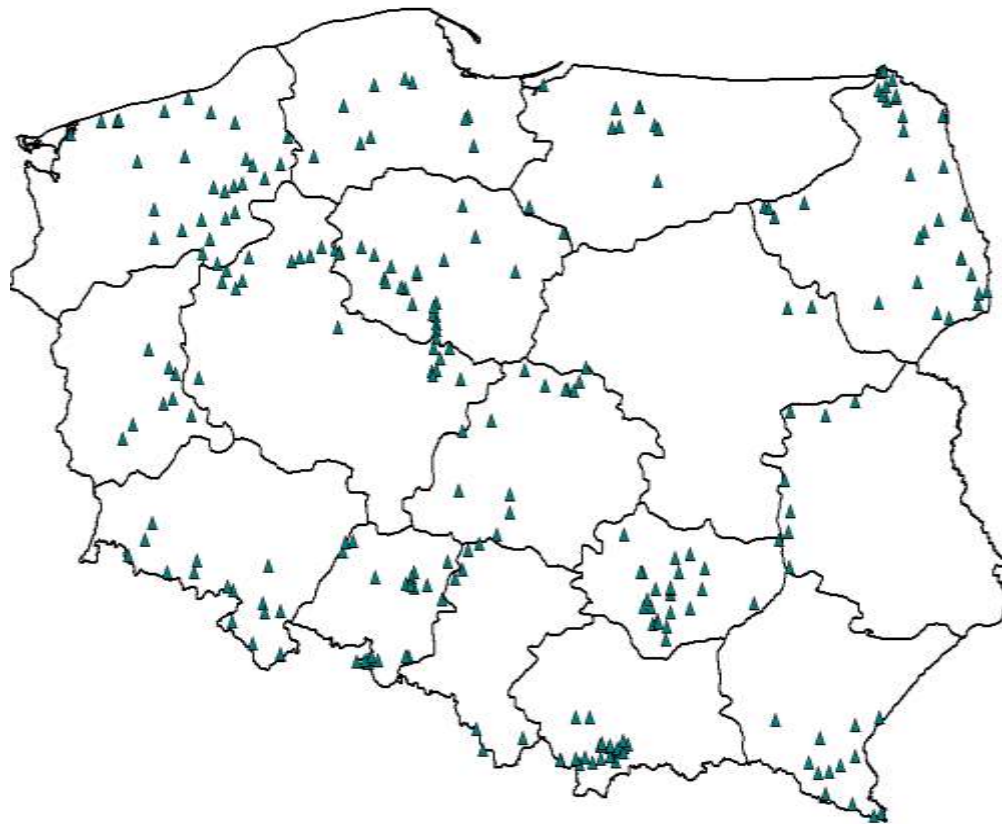


## **Materiał badawczy:**

- badania przeprowadzono w latach 2007-2010 na materiale roślinnym i na nasionach,
- 645 ekotypów traw w formie roślin zebranych podczas ekspedycji lub otrzymanych z Ogrodu Botanicznego IHAR w Bydgoszczy,
- 127 ekotypów pozyskanych w formie nasion oraz 367 prób nasion odmian i rodów otrzymanych od hodowców, plantatorów i firm nasiennych.



Zebrane ekotypy zarówno w formie roślin, jak i nasion, należały do 26 gatunków traw i pochodziły z 266 miejsc w Polsce





# Ekspedycje w różne regiony kraju, pozyskiwanie ekotypów traw ...



świętokrzyskie



mazowieckie



podlaskie



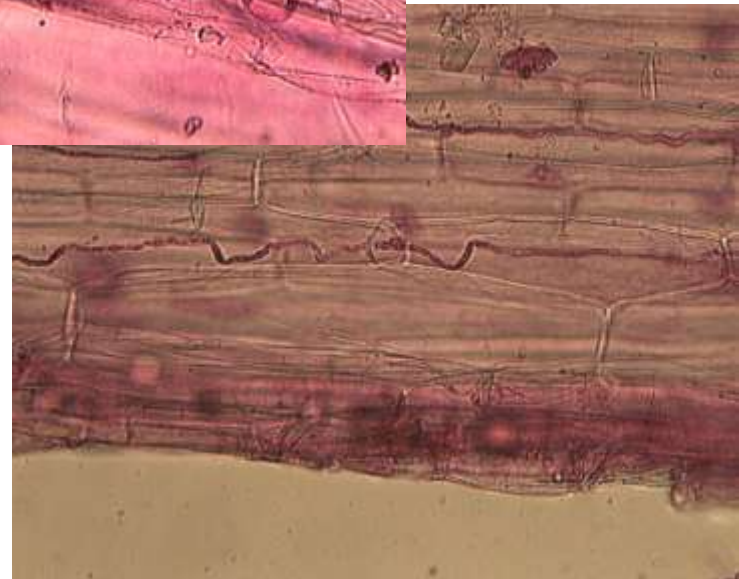
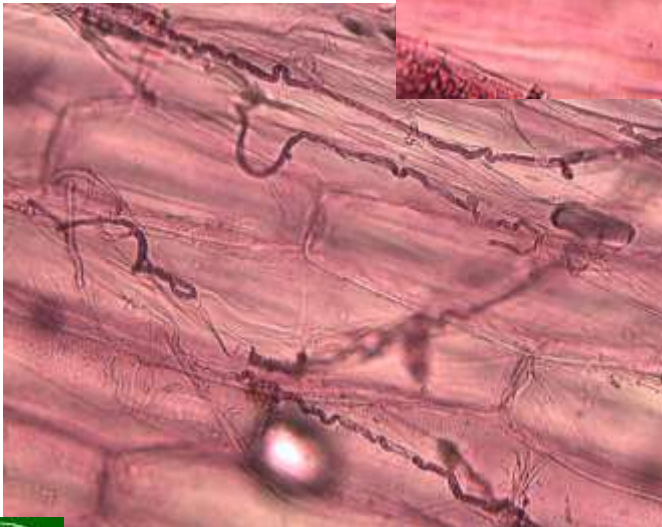
zachodniopomorskie

# Umieszczenie ekotypów w kolekcji polowej pojedynków w IHAR-PIB w Radzikowie ...





# Identyfikacja mikroskopowa obecności grzybnii endofitów w roślinach ... (Saha i in., 1988)



## **W oparciu o wyniki identyfikacji mikroskopowej opisywano nast. cechy ...**

- średnie zasiedlenie ekotypu:

$$n = \frac{\text{liczba zasiedlonych roślin}}{\text{liczba przebadanych roślin}} \times 100$$

- frekwencja zasiedlenia ekotypów, która była liczona dla miejscowości, gatunków i ekotypów:

$$F = \frac{\text{liczba zasiedlonych ekotypów}}{\text{liczba zbadanych ekotypów}} \times 100$$



- Analizy dotyczące alkaloidów wytwarzanych przez endofity zostały wykonane w Pracowni Chorób Roślin Zakładu Fitopatologii IHAR-PIB w Radzikowie. W oznaczeniach skoncentrowano się na ergowalinie, gdyż jest to alkaloid wytwarzany przez endofity zasiedlające gatunki z rodzaju życica oraz kostrzewa, a te występowały najczęściej na łąkach i pastwiskach penetrowanych podczas ekspedycji.
- badania zawartości ergowaliny przeprowadzono w 364 próbach roślin zasiedlonych przez grzyby endofityczne,
- ergowalinę oznaczono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detekcją fluorescencyjną (Craig i in., 1994).



- do wykrywania endofitów w nasionach traw zastosowano metodę immunologiczną Hill'a i wsp. (2002). Wyniki przedstawiono w procentach porażonych nasion u odmian badanych gatunków traw.

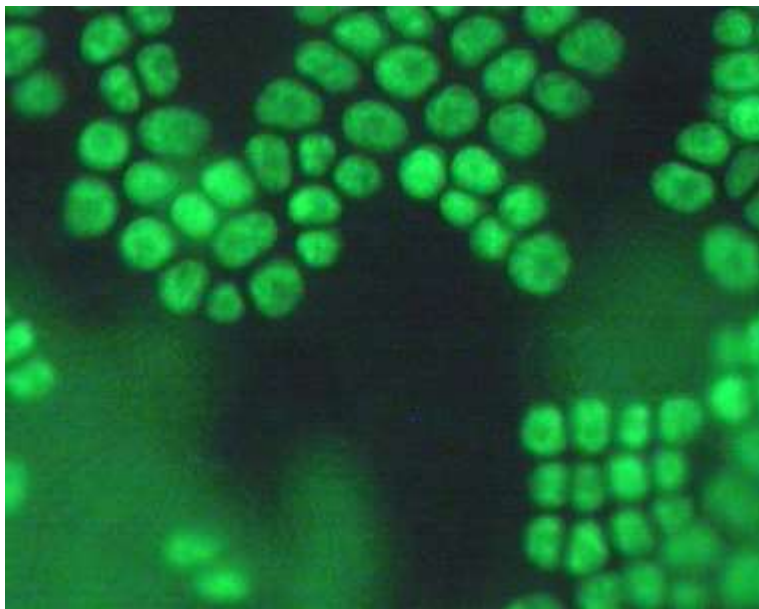


Membrana przedstawiająca nasiona wykazujące pozytywną (lewa) i negatywną (prawa) reakcję na *Neotyphodium* spp. oraz kontrolę (dwa dolne rzędy) pozytywną (+) i negatywną (-)

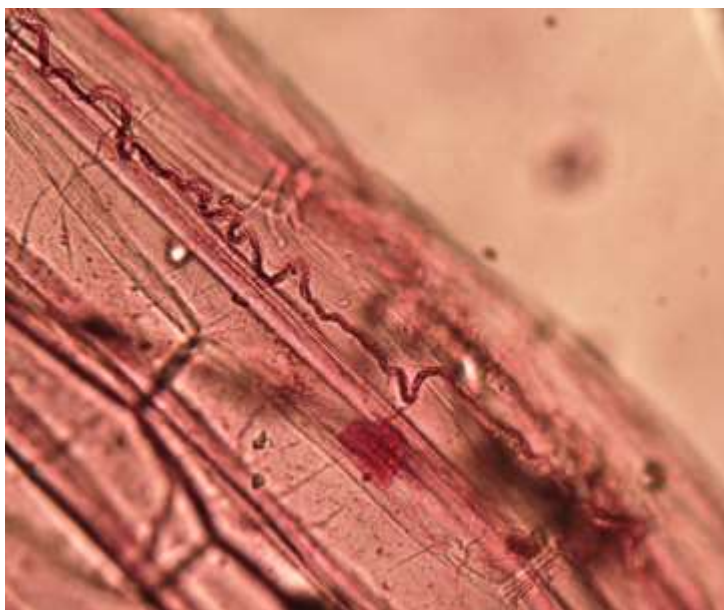
- żywotność endofitów podczas przechowywania nasion: 3 odmiany *Lolium perenne* (Bokser, Grilla i Vigor), 2 odmiany *Festuca pratensis* (Skra i Artema), 2 odmiany *F. ovina* (Jolka i Natałka) i po 1 odmianie *F. rubra* (Anielka), *F. arundinacea* (Terros), *Poa pratensis* (Balin) i *P. nemoralis* (Niuans). Badania przeprowadzono przed i po przechowywaniu przez 9 miesięcy w trzech różnych warunkach środowiska pod względem temperatury: +23°C, + 7°C, -20°C.







Metoda fluorescencyjna- świecące pod wpływem fluoresceiny ziarna aleuronowe (brak świecenia grzybni endofita-grzybnia nieżywotna)



Metoda pośrednia (wysiew nasion i badanie obecności grzybni w siewkach),

## **Eliminacja grzybów endofitycznych z nasion**

-nasiona 2 odmian *Festuca pratensis* oraz po jednej odmianie *Lolium perenne*, *F. rubra*, *F. ovina*, *F. arundinacea* i *Poa pratensis*.

3 metody eliminacji endofitów z nasion:

- suszarka temp. 38°C i wilgotność 50% przez 5 dni,
- zaprawa nasienna Raxil Gel (substancja aktywna tebukonazol i tiuram),
- promieniowanie mikrofalowe - moc 90 W przez 10 minut.

Potraktowane w ten sposób nasiona wysiano w szklarni, a po około 2 miesiącach wegetacji sprawdzano obecność grzybní endofitów w roślinach wyrosłych z tych nasion (metoda pośrednia oceny żywotności).



## Ocena przydatności do celów trawnikowych wybranych ekotypów traw zasiedlonych przez endofity

- po 4 ekotypy *Festuca rubra*, *F. ovina*, *F. arundinacea*, *Lolium perenne* i *Deschampsia caespitosa*
- odmiany wzorcowe – wolne od endofitów: Adio (*F. rubra*), Ridu (*F. ovina*), Finelawn (*F. arundinacea*), Gagat (*Lolium perenne*), Bila (*Poa pratensis*) i Brok (*Deschampsia caespitosa*).

W czasie sezonu badawczego wszystkie obiekty oceniano pod względem przydatności do celów trawnikowych porównując z odmianami wzorcowymi na podstawie takich cech trawnikowych jak: szybkość zadarniania, ogólny aspekt estetyczny, zabarwienie liści, podatność na suszę, choroby i inne (Prończuk, 1993).





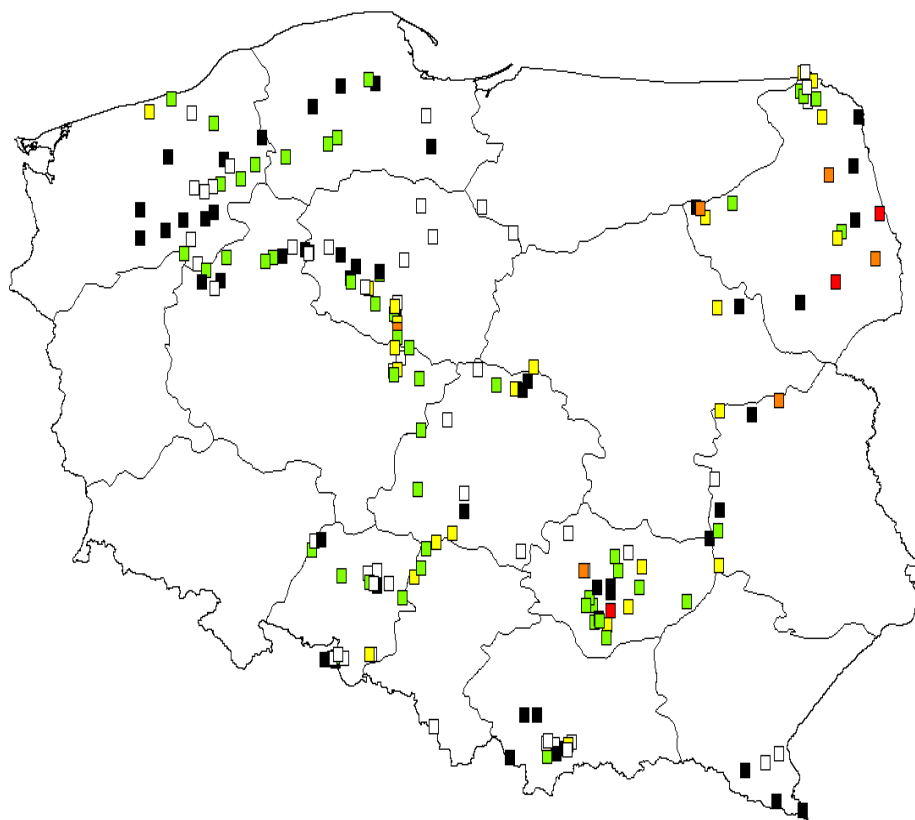
W doświadczeniu zastosowano trzy kombinacje użytkowania:

- a) kontrola: nawożenie mineralne (odpowiadające dawkom  $30 \text{ kg N} \times \text{ha}^{-1}$ ,  $20 \text{ kg P} \times \text{ha}^{-1}$ ,  $20 \text{ kg K} \times \text{ha}^{-1}$ ) co miesiąc od lipca do września, koszenie na wysokość 5 cm co 3 tygodnie, podlewanie w zależności od układu pogodowego;
- b) prowokowana susza: pielęgnacja do 14 września jak w wariancie kontrolnym, potem przeniesienie do szklarni i zaprzestanie podlewania na 10 dni; po tym okresie nawodnienie roślin i obserwacja regeneracji po suszy;
- c) deficyt nawozów: pielęgnacja jak w wariancie kontrolnym, tylko bez nawożenia;
- d) częste koszenie: pielęgnacja jak w wariancie kontrolnym, ale koszenie przeprowadzane raz w tygodniu.



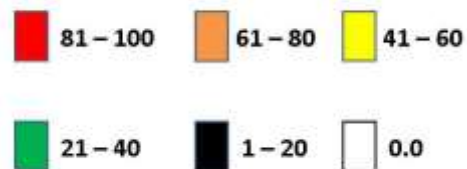
# Wyniki

# Występowanie endofitów w trawach ...



Na 266 przebadanych stanowisk – na **206 (77,4%)** stwierdzono obecność roślin z endofitami ...

Średnia frekwencja zasiedlenia (%):

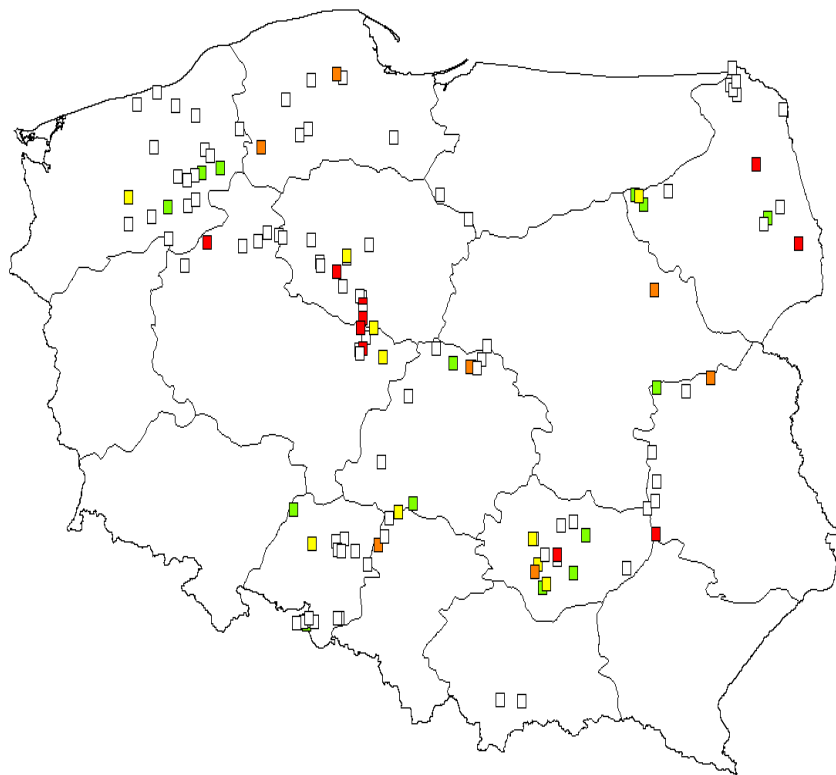


# Zasiedlenie ekotypów badanych gatunków traw przez endofity

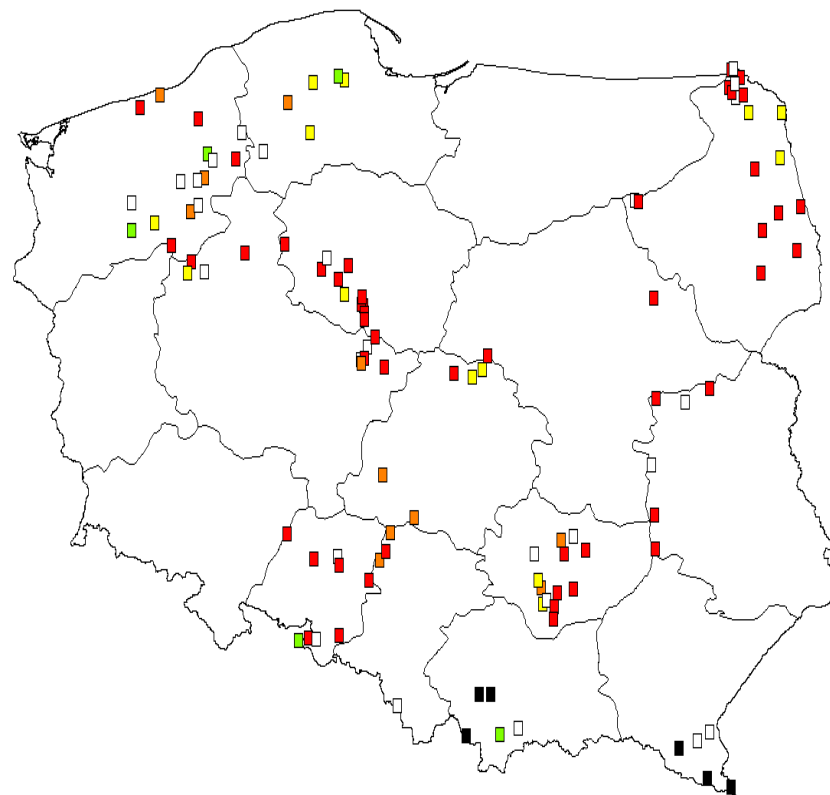
Lp. No	Rodzaj, gatunek Genus, species	EKOTYPY / Ecotypes			Udział ekotypów E+ we wszystkich zebranych (%) Share of E+ ecotypes (%)
		E -	E +	Łącznie Total	
1	<i>Arrhenatherum elatius</i> (L.) P.B. ex J. et C. Presl.	3	0	3	0,0
2	<i>Agrostis gigantea</i> Roth	5	0	5	0,0
3	<i>Alopecurus pratensis</i> L.	5	0	5	0,0
4	<i>Bromus inermis</i> Leyss.	3	0	3	0,0
5	<i>Cynosurus cristatus</i> L.	6	0	6	0,0
6	<i>Deschampsia caespitosa</i> (L.) P.B.	80	2	82	2,4
7	<i>Deschampsia flexuosa</i> (L.) Trin.	10	0	10	0,0
8	<i>Festuca arundinacea</i> Schreb.	17	10	27	37,0
9	<i>Festuca capillata</i> Lam.	5	1	6	16,7
10	<i>Festuca gigantea</i> (L.) Vill.	1	1	2	50,0
11	<i>Festuca heterophylla</i> Lam.	1	0	1	0,0
12	<i>Festuca ovina</i> L.	39	12	51	23,5
13	<i>Festuca pratensis</i> Huds.	28	82	110	74,5
14	<i>Festuca rubra</i> L.	87	60	147	40,8
15	<i>Glyceria fluitans</i> (L.) R. Br.	1	0	1	0,0
16	<i>Holcus</i> sp.	1	0	1	0,0
17	<i>Koeleria</i> sp.	2	0	2	0,0
18	<i>Lolium multiflorum</i> Lam.	1	3	4	75,0
19	<i>Lolium perenne</i> L.	87	41	128	32,0
20	<i>Phleum pratense</i> ssp. <i>Bertolonii</i> (DC.) Bornm.	2	0	2	0,0
21	<i>Phleum pratense</i> * L.	0	1	1	100,0
22	<i>Poa compressa</i> L.	1	0	1	0,0
23	<i>Poa palustris</i> L.	1	0	1	0,0
24	<i>Poa pratensis</i> L.	4	40	44	9,1
25	<i>Danthonia decumbens</i> (L.) DC.	1	0	1	0,0
26	<i>Trisetum flavescens</i> (L.) P.B.	1	0	1	0,0
<b>Suma końcowa/ średnio</b> <b>Final sums/ mean</b>		<b>428</b>	<b>217</b>	<b>645</b>	<b>33,64</b>



# Frekwencja występowania endofitów w ekotypach [%]

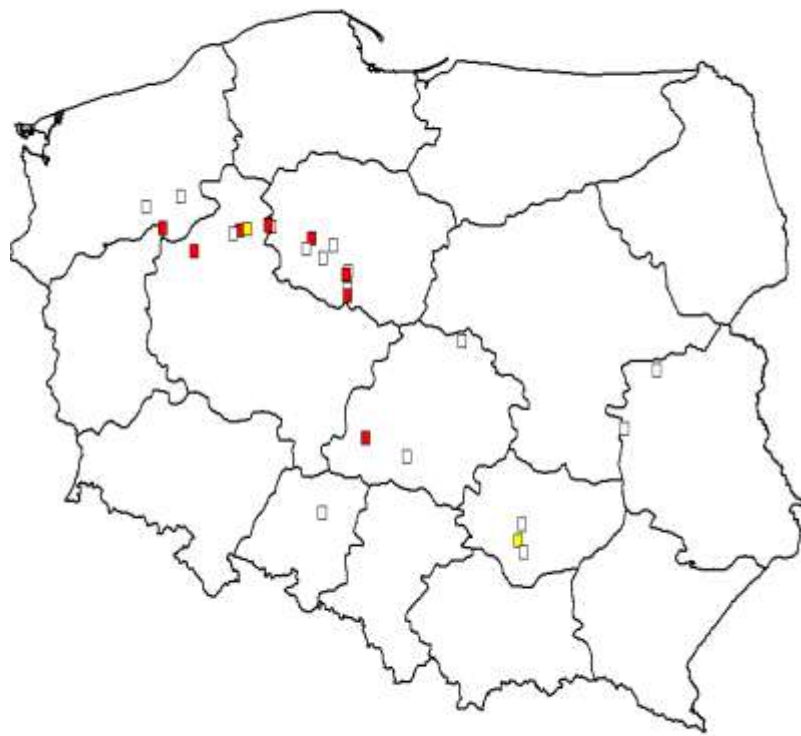


a) życica trwała

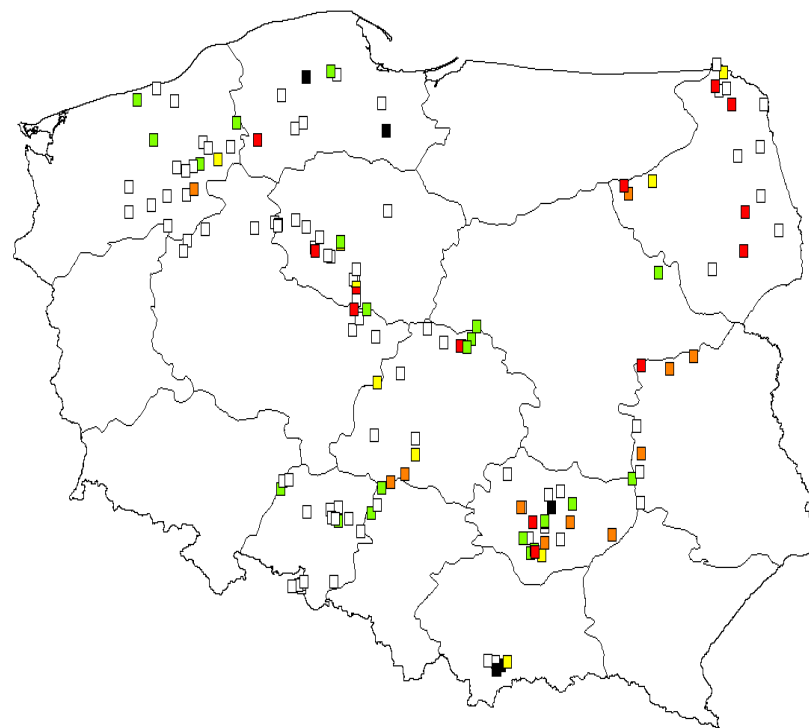


b) kostrzewa łąkowa

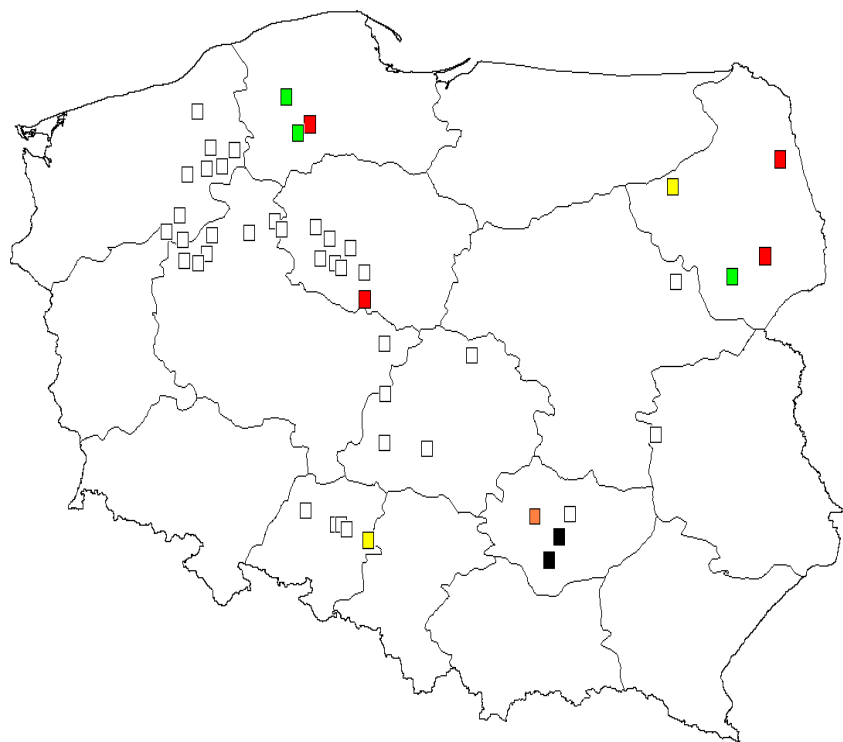




c) kostrzewa trzcinowa



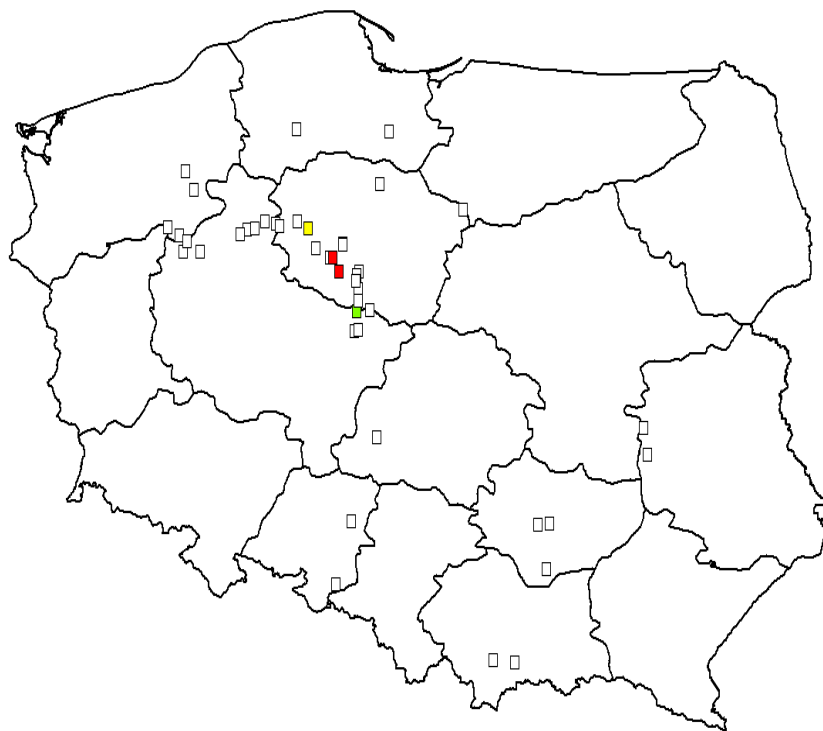
d) kostrzewa czerwona



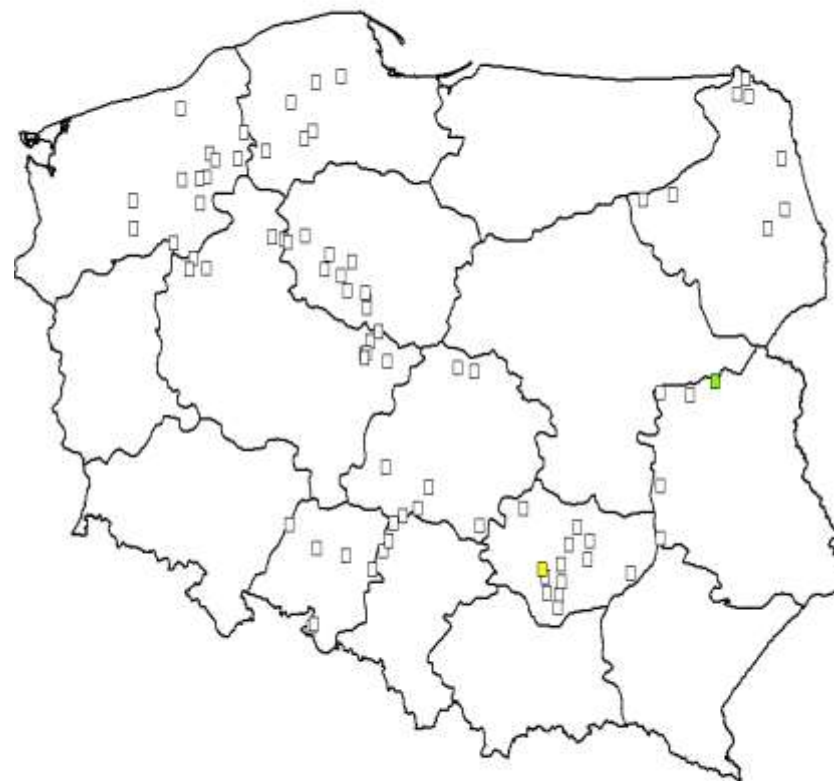
e) kostrzewa owcza



f) kostrzewa nitkowata



g) wiechlina łąkowa



h) śmiałek darniowy

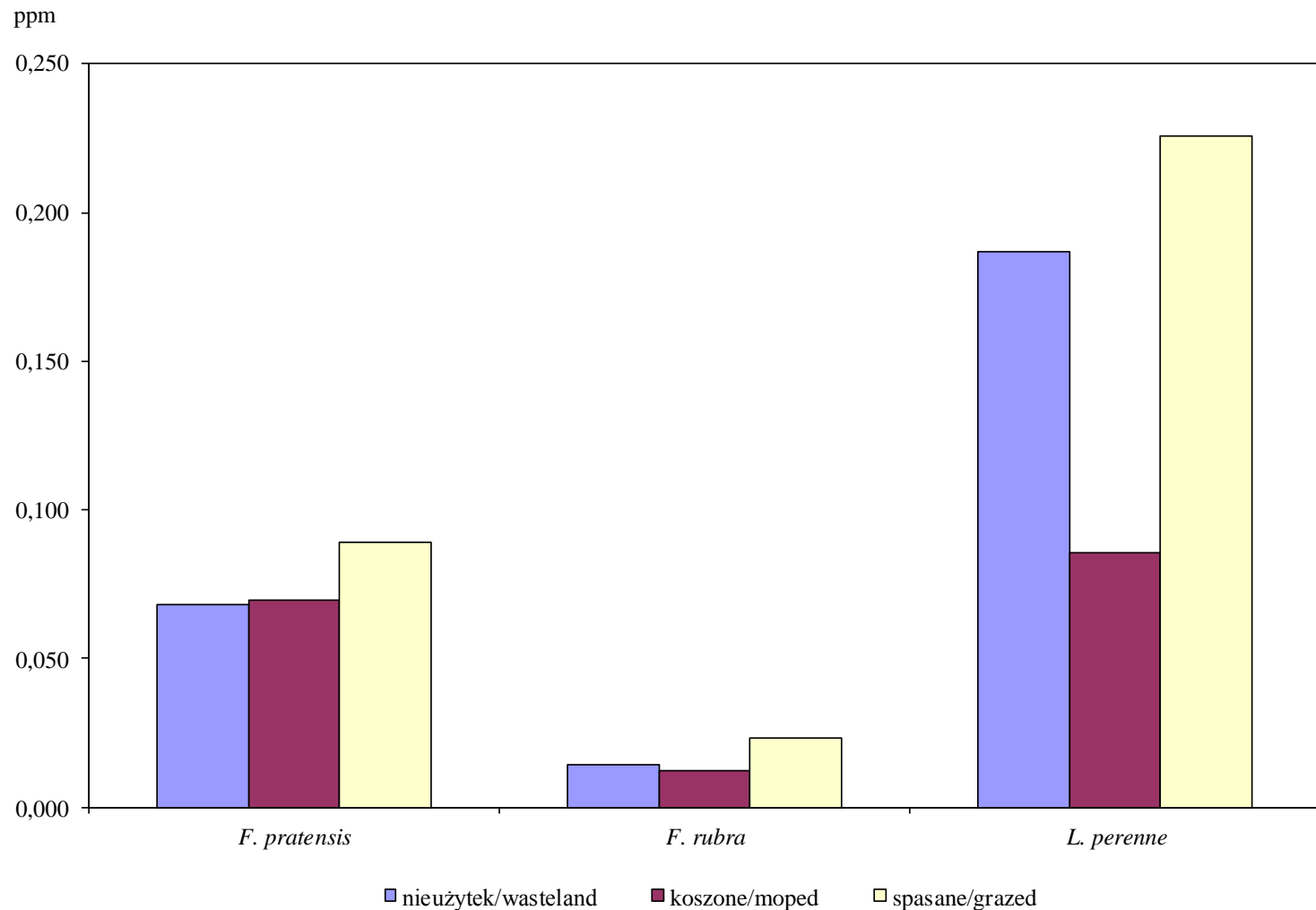


# Zawartość ergowaliny wytwarzanej przez endofity w zależności od gatunku trawy

Rodzaj, gatunek, liczba ekotypów Genus, species, number of ecotypes	Liczba ekotypów produkujących ergowalinę/procent Number of ecotypes producing ergovaline/percentage	Zawartość ergowaliny (ppm)	
		Średnio/ Mean	Zakres/Range
<i>Deschampsia caespitosa</i> (n=2)	1 (50,0)	0,036	0 – 0,071
<i>Festuca arundinacea</i> (n= 10)	9 (90,0)	0,868	0 – 1,517
<i>Festuca capillata</i> (n=1)	1 (100)	0,054	0,054
<i>Festuca gigantea</i> (n=1)	1 (100)	0,031	0,031
<i>Festuca ovina</i> (n=11)	4 (36,4)	0,053	0 – 0,471
<i>Festuca pratensis</i> (n=85)	52 (61,2)	0,070	0 – 0,426
<i>Festuca rubra</i> (n=61)	20 (32,8)	0,015	0 – 0,110
<i>Lolium perenne</i> (n=41)	27 (65,8)	0,153	0 – 1,058
<i>Lolium multiflorum</i> (n=3)	1 (33,3)	0,011	0 – 0,034
<i>Poa pratensis</i> (n=4)	0 (0,0)	0,0	0,0
<i>Phleum pratense</i> (n=1)	0 (0,0)	0,0	0,0
<b>Razem/Total (n=220)</b>	<b>116 (52,7)</b>	<b>0,117</b>	



# Zależność pomiędzy intensywnością użytkowania, a zawartością ergowaliny



# Zasiedlenie nasion *Festuca rubra* (kostrzewa czerwona) przez grzyby endofityczne

Odmiana/ród Variety/strain	Liczba prób nasion Number of seed sample	% nasion z endofitami % seeds with endophytes	
		średnio/mean	zakres/range
Anielka	1	46,0	46
Nista	2	19,0	0-38
Nil	3	15,7	2-32
Nizina	1	15,0	15
Barma	2	9,0	6-12
Leo	10	8,2	0-33
.	.	.	.
.	.	.	.
.	.	.	.
.	.	.	.
Salsa	1	0,0	0
24×Nimba	4	0,0	0
Luba	1	0,0	0
SUMA/SUM ŚREDNIA/MEAN	105	6,2	-

- zbadano 28 odmian i rodów, w 8 brak endofitów



# Zasiedlenie nasion *Festuca arundinacea* (kostrzewa trzcinowa) przez grzyby endofityczne

Odmiana/ród Variety/strain	Liczba prób nasion Number of seed sample	% nasion z endofitami % seeds with endophytes	
		średnio/mean	zakres/range
Terros (p)	2	28,5	6-51
Ród Ra 715	1	25,0	25
Rahela (p)	5	6,8	0-20
Odys (p)	2	6,0	4-8
Asterix	12	4,3	0-16
Kord (p)	4	2,5	0-10
Finelawn	1	0,0	0
Starlett	1	0,0	0
SUMA/SUM ŚREDNIA/MEAN	28	9,1	-

(p) – odmiana pastewna



# Zasiedlenie nasion *Festuca pratensis* (kostrzewa łąkowa) przez grzyby endofityczne

Odmiana Variety	Liczba prób nasion Number of seed sample	% nasion z endofitami % seeds with endophytes	
		średnio/mean	zakres/range
Artema	5	30,0	0-82
Ardenna	7	25,8	0-56
Aureus	2	24,0	12-36
Justa	3	23,7	4-39
Skra	3	17,7	0-31
Gerda	2	17,0	0-34
Cykada	3	16,7	5-23
Wanda	6	10,5	0-31
Pasja	8	8,0	0-32
Skawa	1	4,0	4
Fantazja	3	3,7	2-9
Skiba	3	3,3	0-8
Laura	1	0,0	0
SUMA/SUM ŚREDNIA/MEAN	47	14,2	-



# Zasiedlenie nasion *Festuca ovina* (kostrzewa owcza) przez grzyby endofityczne

Odmiana Variety	Liczba prób nasion Number of seed sample	% nasion z endofitami % seeds with endophytes	
		średnio/mean	zakres/range
Jolka	1	98,0	98
Noni	1	92,0	92
Natalka	1	39,0	39
Promyk	3	27,7	14-46
Edolana	1	22,0	22
Mentor	2	7,0	7
Tenis	2	6,0	0-12
Sima	1	2,0	2
Ridu	1	0,0	0
SUMA/SUM ŚREDNIA/MEAN	13	32,6	-



# Zasiedlenie nasion *Poa pratensis* (wiechlina łąkowa) i *Poa nemoralis* (wiechlina gajowa) przez grzyby endofityczne

Gatunek Species	Odmiana/ród Variety/strain	Liczba prób nasion Number of seed sample	% nasion z endofitami % seeds with endophytes	
			średnio mean	zakres range
<i>Poa nemoralis</i>	Niuans	1	98,0	98
	Pinokio	1	98,0	98
<i>Poa pratensis</i>	Balin (p)	2	19,0	10-28
	Niweta	1	13,0	13
	Eska-46 (p)	2	11,0	3-19
	Bila	9	10,2	0-73
	.	.	.	.
	.	.	.	.
	.	.	.	.
	Sójka	1	0,0	0
SUMA/SUM ŚREDNIA/MEAN		40	17,5	-

- zbadano 15 odmian i rodów wiechliny łąkowej, w 1 brak endofitów



# Zasiedlenie nasion *Lolium perenne* (życica trwała) przez grzyby endofityczne

Odmiana/ród Variety/strain	Liczba prób nasion Number of seed sample	% nasion z endofitami % seeds with endophytes	
		średnio/mean	zakres/range
Graffiti	1	66,0	66
Grilla	6	38,7	2-78
Bokser	8	36,5	9-70
Niobe	1	34,0	34
Carerra	2	28,5	8-49
Marysieńka (p)	1	26,0	26
Nadmorski	1	20,0	20
.	.	.	.
.	.	.	.
.	.	.	.
Aut	1	0,0	0
Gazon	2	0,0	0
Akwamaryn (p)	1	0,0	0
SUMA/SUM ŚREDNIA/MEAN	118	12,5	-

- zbadano 33 odmiany i rody, w 3 brak endofitów





# Zasiedlenie nasion *Lolium* × *hybridum* i *L. multiflorum* przez grzyby endofityczne

Gatunek/ Species	Odmiana Variety	Liczba prób nasion Number of seed sample	% nasion z endofitami % seeds with endophytes	
			średnio/mean	zakres/range
<i>L. multiflorum</i>	Telga	2	16,0	0-32
	Koga	1	15,0	15
	Turtetra	1	2,0	2
<i>Lolium</i> × <i>hybridum</i>	Mega	1	69,0	69
	Gala	2	6,5	0-13
SUMA/SUM ŚREDNIA/MEAN		7	21,7	-



# Zasiedlenie nasion innych badanych gatunków traw przez grzyby endofityczne

Gatunek/Species	Odmiana Variety	Liczba prób nasion Number of seed sample	% nasion z endofitami % seeds with endophytes	
			średnio/mean	zakres/range
<i>Dactylis glomerata</i>	Amera	1	0,0	0
	Berta	2	1,5	0 - 3
	Bepro	2	1,0	0 - 2
<i>Phleum pratense</i>	Kaba	1	7,0	7
<i>Festulolium</i>	Felopa	1	6,0	6
	Sulino	1	4,0	4
	Agula	1	2,0	2
SUMA/SUM ŚREDNIA/MEAN		9	3,1	-



# Zasiedlenie nasion badanych ekotypów traw przez endofity

GATUNEK SPECIES	Liczba ekotypów Number of ecotypes	Liczba ekotypów zasiedlonych przez endofity w zakresie [%] Number of ecotypes infected by endophytes in range [%]					Średnie zasiedlenie [%] Mean contamination [%]
		0	1 - 10	11 - 30	31 – 60	61 - 100	
<i>Festuca rubra</i>	49	14 (28,6)	8 (16,3)	9 (18,4)	11 (22,4)	7 (14,3)	24,8
<i>Festuca arundinacea</i>	5	2 (40,0)	0 (0,0)	1 (20,0)	0 (0,0)	2 (40,0)	31,2
<i>Festuca pratensis</i>	34	7 (20,6)	10 (29,4)	9 (26,5)	6 (17,6)	2 (5,9)	18,6
<i>Lolium perenne</i>	23	2 (8,7)	4 (17,4)	12 (52,2)	4 (17,4)	1 (4,3)	24,5
<i>Deschampsia caespitosa</i>	16	6 (37,5)	9 (56,2)	1 (6,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	4,0

( ... ) – średnia frekwencja zasiedlenia w danym przedziale



# Przeżywalność endofitów w czasie przechowywania nasion

Gatunek Species	Odmiana Variety	% zasiedlenie nasion % seed infection	Żywotność/ Vitality			
			Wyjściowa Original	Po przechowywaniu w temperaturze After storage in temperature		
				+23°C	+7°C	-20°C
<i>Lolium perenne</i>	Bokser	70	100	70	80	70
	Grilla	78	100	70	100	80
	Vigor	90	100	100	100	100
<i>Festuca pratensis</i>	Skra	31	100	60	90	60
	Artema	82	60	40	40	30
<i>Festuca rubra</i>	Anielka	46	70	40	40	30
<i>Festuca arundinacea</i>	Terros	51	50	40	40	40
<i>Festuca ovina</i>	Jolka	99	90	60	60	50
	Natalka	38	50	30	40	50
<i>Poa pratensis</i>	Balin	28	60	30	30	30
<i>Poa nemoralis</i>	Niuans	98	30	10	30	30
Średni spadek żywotności/Mean decrease of vitality*				23,6	14,5	21,8



# Wpływ wybranych metod na żywotność endofitów

GATUNEK SPECIES	ODMIANA VARIETY	% zasiedlenie nasion % seed infection	Żywotność endofitów [%] Endophytes vitality [%]			
			Wyjściowa Original	Suszarka/ Dryer	Mikrofalówka/ Microwave	Zaprawa/ Chemical treatment
<i>Festuca pratensis</i>	Artema	82	60	30	20	0
	Skra	31	100	50	70	0
<i>Festuca rubra</i>	Anielka	46	70	40	30	0
<i>Festuca arundinacea</i>	Terros	51	51	30	20	0
<i>Festuca ovina</i>	Jolka	99	90	40	40	0
<i>Lolium perenne</i>	Vigor	90	100	100	100	0
<i>Poa pratensis</i>	Balin	28	61	30	20	0
Średnio/Mean		61,0	76,0	45,7	42,8	0



# Przydatność do celów trawnikowych wybranych ekotypów traw poddanych stresom środowiskowym

Wśród 20 badanych ekotypów w 5 gatunkach traw gazonowych tylko 5 ekotypów dorównywało lub przewyższało odmiany wzorcowe w określonych warunkach pielęgnacji i stymulowania warunków stresowych.



Odrost roślin ekotypów i odmian wzorcowych śmiałka darniowego (po lewej) i  
kostrzewy trzcinowej (po prawej) po stymulowanym okresie suszy

- Obecność endofitów w roślinach traw nie była wyraźnie związana ze sposobem ich użytkowania. Zauważalna była natomiast tendencja mniejszego ich występowania na terenach intensywnie użytkowanych. Wilgotność podłoża także nie miała istotnego wpływu na zasiedlenie roślin przez grzyby z rodzaju *Neotyphodium*, mimo że frekwencja występowania endofitów oraz średnie zasiedlenie ekotypów było niższe u traw rosnących na podłożu o niskiej wilgotności.
- Występowanie grzybów endofitycznych w roślinach związane było z różną ich aktywnością w zakresie produkcji ergowaliny. Badania przeprowadzone na większej populacji ekotypów pozwoliły ustalić zakres zmienności oraz stany średnie tego składnika. Najwyższą średnią zawartość ergowaliny stwierdzono kolejno u *Festuca arundinacea*, *Lolium perenne*, *F. pratensis*, *F. ovina* i *F. rubra*.
- Stwierdzono, że zawartość ergowaliny wytwarzanej przez endofity zasiedlające *Festuca arundinacea* i *Lolium perenne* w niektórych przypadkach przekraczała szkodliwe dla zwierząt wartości progowe oznaczone dla tego alkaloidu.



# Wnioski

- Grzyby z rodzaju *Neotyphodium* występują zarówno w roślinach jak i nasionach ekotypów, odmian oraz rodów hodowlanych różnych gatunków traw wieloletnich pochodzących z różnych stanowisk i różnych rejonów kraju.
- Wyodrębniono dwa rejony, w których częstotliwość występowania i stopień zasiedlenia ekotypów były wyraźnie wyższe w porównaniu z pozostałymi regionami: województwo podlaskie oraz świętokrzyskie.
- Gatunkami najczęściej zasiedlanymi przez endofity na trwałych użytkach zielonych były *Lolium perenne*, *L. multiflorum*, *Festuca pratensis*, *F. arundinacea*, *F. rubra* i *F. ovina*. Wymienione trzy pierwsze gatunki należą do najwartościowszych traw pastewnych i są jednocześnie stałymi komponentami niemalże wszystkich mieszanek siewnych dostępnych na rynku krajowym.





- Materiał siewny traw jest istotnym źródłem rozprzestrzeniania się grzybów endofitycznych na terenie kraju, a nasiona ekotypów są silniej zasiedlone niż nasiona odmian.
- Uzyskane w pracy wyniki mogą być podstawą do wprowadzenia w Polsce oznakowania odmian na E+ i E-, co zapobiegnie introdukcji endofitów na łąki i pastwiska do tej pory od nich wolne. Zagrożenie to jest realne w związku z otwarciem rynku polskiego i import nasion traw z różnych rejonów świata.
- Warunki przechowywania nasion w istotny sposób wpływają na żywotność endofitów, a skutecznym środkiem ich eliminacji z nasion okazało się niszczenie chemiczne. Rozprzestrzenianie się endofitów mogłoby zostać skutecznie ograniczone poprzez ujawnianie informacji o ich występowaniu w nasionach.
- Endofity występujące w roślinach *D. caespitosa* i *F. arundinacea* mogą w warunkach stresu środowiskowego wpływać korzystnie na ich regenerację. Może to mieć duże znaczenie w hodowli traw o innym niż paszowe przeznaczeniu.

