

Streszczenie w języku polskim

Mikroskopowe grzyby strzępkowe z rodzaju *Trichoderma* znajdują szerokie zastosowanie w gospodarce człowieka, w tym rolnictwie. Zaobserwowano, że wybrane gatunki z tego rodzaju mogą wpływać pozytywnie na wzrost roślin i hamować aktywność fitopatogenów popularnie uprawianych zbóż.

Uprawa pszenicy często jest narażona na oddziaływanie abiotycznych i biotycznych czynników stresowych. W celu zwalczania chwastów poddaje się ją oddziaływaniu chemicznych środków ochrony roślin. Do biotycznych czynników stresowych należy w szczególności aktywność grzybów mikroskopowych z rodzaju *Fusarium*, które mogą wywoływać takie choroby roślin jak fuzariotyczna zgnilizna korony czy fuzarioza kłosów.

Niniejsza praca doktorska dotyczy możliwości wykorzystania grzybów z gatunku *Trichoderma harzianum*, jako potencjalny czynnik kontroli biologicznej, chroniący pszenicę przed stresem biotycznym i abiotycznym oraz wspomagający wzrost rośliny we wczesnych stadiach kiełkowania.

W pierwszym etapie pracy oceniono wpływ wybranego do badań herbicydu – kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego (2,4-D) na wzrost i rozwój *T. harzianum* w hodowli płynnej. Uzyskane wyniki wykazały brak istotnego oddziaływania tego herbicydu na wzrost drobnoustroju. Za pomocą techniki rozdziału elektroforetycznego białek (1-D), zidentyfikowano białka biorące udział w reakcji oksydoredukcyjnej. Stosując technikę mikroskopii fluorescencyjnej w hodowli z dodanym 2,4-D stwierdzono wzrost poziomu reaktywnych form tlenu RFT w fazie wzrostu wykładniczego, natomiast w próbie kontrolnej nie zaobserwowano ich obecności. Otrzymane wyniki ściśle korelowały z profilami oksylipin i fosfolipidów wskazujących na zachodzący stres w grzybni *T. harzianum*. Wykonano także oznaczenia zawartości metabolitów *T. harzianum* – kwasu harzianowego i T22-azofilonu, wykazano, że dodanie 2,4-D powodowało zahamowanie produkcji metabolitów w 24h. Powyższe analizy przeprowadzono z zastosowaniem techniki LC-MS/MS.

W kolejnym etapie pracy zbadano wpływ zewnątrzkomórkowych metabolitów *T. harzianum* na wzrost i rozwój *Fusarium culmorum* w hodowli stałej i hodowli płynnej. Uzyskane z hodowli na podłożu stałym wyniki wykazały, że metabolity *Trichoderma* wpływają

na zahamowanie wzrostu grzybni (ok. 85%), a także na zdolność do zarodnikowania. Odnotowano różnice w produkcji barwników naftochinonowych w hodowli kontrolnej - przed 96h i po 168h, natomiast w hodowli badanej 120h a 168h. Stosując technikę LC-MS/MS oznaczono stężenie syntetyzowanej przez wybrany szczep mykotoksyny – zearalenonu, w 120h zauważono 10-krotnie niższe wartości w hodowli badanej w stosunku do kontroli. Przeprowadzono również analizę porównawczą profilu białkowego grzybni stosując technikę 2-D. W hodowli badanej z dodanym ekstraktem z *T. harzianum* zidentyfikowano niezależną od GSH glioksalazę HSP31, która jest zaangażowana w reakcje obronne przed RFT. Technika LC-MS/MS oznaczono mniejsze ilości GSH w całym okresie hodowli w próbie badanej. Za pomocą techniki spektrofotometrycznej oznaczono enzymy katalazę (CAT) i dysmutazę ponadtlenkową (SOD), biorące udział w zwalczaniu RFT. Uzyskane wyniki potwierdziły niższy poziom aktywnej SOD w kontroli i całkowity brak CAT.

W trzecim etapie pracy doktorskiej oceniono zdolności metabolitów *Trichoderma* do wspomagania wzrostu pszenicy w obecności czynników stresowych. Udowodniono, że dodane metabolity na równi z zarodnikami *T. harzianum* przyczyniają się do szybszego kiełkowania pszenicy, a także wspomagają wzrost korzeni w układach z dodanym herbicydem. Aby ocenić poziom stresu zachodzącego w roślinie, techniką LC-MS/MS oznaczono zawartość kwasu jasmonowego, którego niższe ilości odnotowano zarówno w układach z czynnikami stresowymi i dodanymi zarodnikami, jak i czynnikami stresowymi oraz metabolitami *Trichoderma*. Na podstawie analizy porównawczej 2-D oznaczono różnice w profilach białek izolowanych z pędów i korzeni pszenicy. Zidentyfikowano wyraźny wpływ czynników stresowych na zdolności fotosyntezujące. Powyższe wyniki wykazywały dużą zbieżność z przeprowadzonym pomiarem ilości chlorofilu w pędach rośliny. Stwierdzono jego niższy poziom we wspomnianych układach, natomiast w obecności *T. harzianum* obserwowano wyższe ilości barwnika, co może świadczyć o obniżaniu toksycznego oddziaływanie herbicydu i fitopatogenu.

Przeprowadzone badania wskazują na zdolność zarodników *T. harzianum* jak i otrzymanego ekstraktu do wspomagania wzrostu pszenicy oraz na możliwość ich wykorzystania w celu niwelacji negatywnego oddziaływania biotycznych i abiotycznych czynników stresowych na roślinę.

Julia Ulwiczka