

# Określenie endofitycznego mykobiomu ziarniaków wybranych odmian jęczmienia metodą klasyczną i przy zastosowaniu sekwencjonowania nowej generacji NGS

Barbara Abramczyk<sup>1</sup>, Elżbieta Mielniczuk<sup>1</sup>, Anna Marzec-Grządziel<sup>2</sup>, Ewa Król<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Katedra Ochrony Roślin, Zakład Fitopatologii i Mykologii,

<sup>2</sup> Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa-Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Mikrobiologii

barbara.abramczyk@up.lublin.pl

## WSTĘP

Jęczmień jest zasiedlany przez różnorodne mikroorganizmy, których wzajemne interakcje wpływają na jego zdrowie, wzrost i rozwój, plon ziarna i jakość. Grzyby endofityczne są kluczowym składnikiem społeczności mikrobiologicznych, które zamieszkują wewnętrzne tkanki roślin, nie powodując widocznych objawów chorobowych i odgrywają ważną rolę w zdrowiu roślin i promowaniu wzrostu

## CEL

Celem prezentowanych badań było porównanie endofitycznego mykobiomu ziarniaków trzech odmian jęczmienia: ‘Aristelle’, ‘Flamenco’ i ‘Tilmor’ uprawianych w Polsce. W badaniach wykorzystano tradycyjną metodę izolacji i hodowli grzybów na zestalonej w szalkach Petriego pożywce ziemniaczano-agarowej (PDA), oraz sekwencjonowanie nowej generacji (NGS).

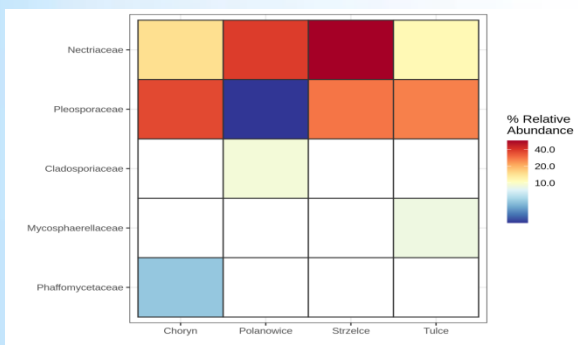
## WYNIKI

Przeprowadzone analizy ujawniły kolonizację endofityczną tkanek ziarna jęczmienia przez grzyby z rodzajów *Alternaria*, *Fusarium*, *Bipolaris*, *Epicoccum* oraz liczne kultury czarnej niezarodnikującej grzybni. Nie odnotowano istotnych różnic w składzie gatunkowym grzybów endofitycznych badanych odmian i lokalizacji. Różnice te dotyczyły jedynie liczebności izolowanych gatunków. Skład gatunkowy, zwłaszcza w obrębie rodzaju *Fusarium*, różnił się nieznacznie w zależności od odmiany jęczmienia i badanych lokalizacji. Przykładowo *F. equiseti* był najliczniejszym gatunkiem izolowanym w Tulcach i Choryniu, stanowiąc odpowiednio 53% i 41% wszystkich izolowanych grzybów w tej lokalizacji. *F. poae* był obecny tylko w dwóch lokalizacjach, tj. Strzelcach (32%) i Polanowicach (7%) (Tab. 1,2,3,4). Mykobiom wspólny dla wszystkich odmian i lokalizacji obejmował grzyby z rodzajów *Alternaria* i *Fusarium*, co zostało potwierdzone również w analizie NGS.

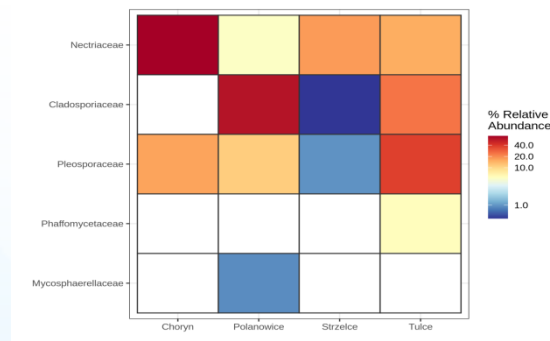
Tab.1,2,3,4. Liczba izolatów uzyskanych z wybranych odmian i lokalizacji w oparciu o klasyczną metodę hodowli.

Gatunek grzyba	POLANOWICE			Liczba wszystkich izolatów (%)	Gatunek grzyba	STRZELCE			Liczba wszystkich izolatów (%)
	Aristelle	Flamenco	Tilmor			Aristelle	Flamenco	Tilmor	
<i>Alternaria alternata</i>	54	15	43	112 (42)	<i>Alternaria alternata</i>	28	50	30	108 (41)
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	4	36	14	54 (20)	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	4	3	5	12 (5)
<i>Epicoccum nigrum</i>	0	2	1	3 (1)	<i>Epicoccum nigrum</i>	0	0	1	1 (<1)
<i>Fusarium avenaceum</i>	2	0	0	2 (<1)	<i>Fusarium culmorum</i>	1	0	0	1 (<1)
<i>Fusarium equiseti</i>	4	0	0	4 (1,5)	<i>Fusarium equiseti</i>	0	0	4	4 (1,5)
<i>Fusarium poae</i>	9	10	1	20 (7)	<i>Fusarium poae</i>	14	25	43	82 (32)
<i>Fusarium tricinctum</i>	0	9	1	10 (4)	<i>Fusarium tricinctum</i>	0	0	1	1 (<1)
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	0	0	6	6 (2)	<i>Fusarium sporotrichioides</i>	16	0	3	19 (7)
<i>Penicilium sp.</i>	0	0	4	4 (1,5)	<i>Mucor sp.</i>	0	1	0	1 (<1)
Czarna grzybnia niezarodn.	15	11	24	50 (19)	Czarna grzybnia niezarodn.	23	7	0	30 (12)
Liczba wszystkich izolatów	88	83	94	265 (100)	Liczba wszystkich izolatów	86	86	87	259 (100)

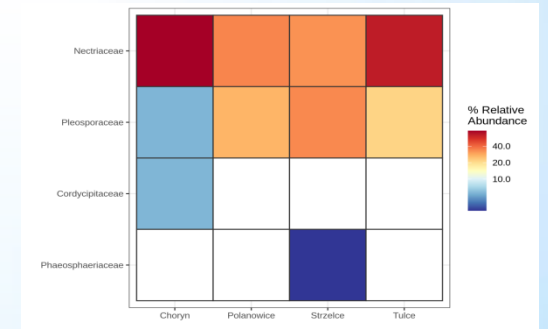
Gatunek grzyba	TULCE			Liczba wszystkich izolatów (%)	Gatunek grzyba	CHORYŃ			Liczba wszystkich izolatów (%)
	Aristelle	Flamenco	Tilmor			Aristelle	Flamenco	Tilmor	
<i>Alternaria alternata</i>	35	23	26	84 (36)	<i>Alternaria alternata</i>	10	27	36	73 (32)
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	0	0	3	3 (1)	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	6	7	0	13 (6)
<i>Epicoccum nigrum</i>	0	0	0	0	<i>Epicoccum nigrum</i>	0	1	0	1 (<1)
<i>Fusarium equiseti</i>	43	43	38	124 (53)	<i>Fusarium avenaceum</i>	0	4	0	4 (2)
<i>Fusarium tricinctum</i>	4	0	0	4 (1,6)	<i>Fusarium crookwellense</i>	2	0	0	2 (1)
Czarna grzybnia niezarodn.	4	11	6	21 (9)	<i>Fusarium equiseti</i>	37	30	27	94 (41)
Liczba wszystkich izolatów	86	77	73	236 (100)	Czarna grzybnia niezarodn.	0	24	17	41 (18)
					Liczba wszystkich izolatów	55	93	80	228 (100)



ARISTELLE



FLAMENCO



TILMOR

W wyniku analizy NGS uzyskano 90 000 odczytów dla każdej lokalizacji. Mykobiom wspólny dla wszystkich badanych lokalizacji i odmian (*Fusarium* spp., *Alternaria* sp.) stanowił 47%, 51%, 71% i 65% wszystkich wyizolowanych grzybów z danej lokalizacji odpowiednio dla Polanowice, Strzelce, Tulce i Choryń. Dla wszystkich testowanych odmian jęczmienia, niezależnie od lokalizacji i zastosowanej metody badawczej (NGS lub metoda klasyczna), dominującymi gatunkami były gatunki z rodzin *Nectriaceae* i *Pleosporaceae*. Zastosowanie metody szalkowej w połączeniu z sekwencjonowaniem nowej generacji pozwala na uzyskanie bardziej precyzyjnych i wiarygodnych wyników.

Prezentowane badania stanowią wstęp do dalszych, bardziej szczegółowych badań nad możliwością wyizolowania i wyselekcjonowania najskuteczniejszych szczepów grzybów endofitycznych w celu wspomaganie wzrostu i ochrony roślin jęczmienia przed fitopatogenami.