

# Technologia eradykacji endofitów w produkcji traw modyfikowanych symbiotycznie

Jean De Dieu Muhire<sup>1</sup>, Dariusz Pańka<sup>2</sup>, Jan Mućko<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Hodowla Roślin Grunwald sp. z o.o. Grupa IHAR, Mielno 163, 14-107 Mielno

<sup>2</sup> Politechnika Bydgoska, Katedra Biologii i Ochrony Roślin, Al. prof. S. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz

<sup>3</sup> Politechnika Bydgoska, Al. prof. S. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz

e-mail: [mujados88@gmail.com](mailto:mujados88@gmail.com)

Trawy należą do roślin wykorzystywanych głównie w celach paszowych oraz na terenach rekreacyjnych. Są bardzo często zasiedlane przez symbiotyczne mikroorganizmy. Do najważniejszych należą grzyby endomikoryzowe *Rhizophagus* spp. i *Glomus* spp. oraz endofity rodzaju *Epichloë*. Pierwsze dwa wnikają do korzeni i tam rozwijają się razem z rośliną. W glebie mogą przetrwać dzięki zarodnikom przetrwalnikowym. Natomiast, *Epichloë* spp. są wyspecjalizowanymi endosymbiontami rozwijającymi się wyłącznie w żywej roślinie, w jej nadziemnych partiach. Przenoszone są wertykalnie z nasionami traw lub horyzontalnie poprzez rozmnażanie wegetatywne. Obecność tych endofitów warunkuje wyższą odporność rośliny na liczne czynniki stresowe, zarówno biotyczne jak i abiotyczne. Asocjacje traw z endofitem charakteryzują się zazwyczaj wyższą trwałością w środowisku oraz są bardziej odporne na suszę i niedobory składników pokarmowych w glebie. Są także mniej podatne na porażenie przez patogeny oraz żerowanie szkodników. Trawy zasiedlane przez endofity mogą jednak stanowić zagrożenie dla zwierząt gospodarskich ze względu na produkcję szkodliwych toksyn. „Bezpieczne” asocjacje to takie, które są zasiedlane przez wyselekcjonowane endofity, tzw. novel endophytes. Wykorzystuje się je w procesie tworzenia symbiotycznie modyfikowanych traw. Wprowadzenie takich endofitów wymaga jednak wcześniejszego usunięcia szkodliwych, naturalnie występujących w odmianie uprawnej „dzikich” endosymbiontów. Proces eradykacji jest bardzo trudny i czasochłonny. Przeprowadza się go zazwyczaj z wykorzystaniem fungicydów lub wysokiej temperatury. Dlatego też, celowe jest poszukiwanie nowych, bardziej efektywnych i bezpieczniejszych dla środowiska metod. W związku z tym rozpoczęto badania nad opracowaniem nowej technologii eradykacji endofitów traw z wykorzystaniem plazmy niskotemperaturowej. Aktualnie, trwają prace nad optymalizacją parametrów pracy generatora plazmy, tj. mocy oraz czasu ekspozycji. Badania są prowadzone na życicy trwałej odmiany Bajka, którą tworzy 13 rodów. Nasiona poddane działaniu plazmy są wykładane na płytki Petriego z pożywką PDA oraz wysiewane do doniczek z substratem torfowym. Materiał nasienny oraz roślinny jest poddawany analizom mikroskopowym oraz molekularnym w celu określenia skuteczności zastosowanej metody. Wstępne wyniki wskazują na możliwość wykorzystania zimnej plazmy do eradykacji endofita życicy trwałej. Prowadzone badania są częścią projektu pt. Wprowadzenie na rynek innowacyjnej odmiany życicy trwałej zasiedlonej przez symbiotyczne grzyby endofityczne” realizowanego przez konsorcjum NOVA TRAWA, w ramach działania M16 „Współpraca” koordynowanego przez Agencję Restrukturyzacji i Modernizacji Rolnictwa (Program Rozwoju Obszarów Wiejskich na lata 2014 – 2020).

# Endophyte eradication technology in the production of symbiotically modified grasses

Jean De Dieu Muhire<sup>1</sup>, Dariusz Pańka<sup>2</sup>, Jan Mućko<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Plant Breeding Grunwald Ltd. IHAR Group, Mielno 163, 14-107 Mielno

<sup>2</sup> Bydgoszcz University of Science and Technology, Department of Plant Biology and Protection, Al. prof. S. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz

<sup>3</sup> Bydgoszcz University of Science and Technology, Al. prof. S. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz

e-mail: [mujados88@gmail.com](mailto:mujados88@gmail.com)

Grasses are plants used mainly for fodder purposes and on recreational areas. They are very often inhabited by symbiotic microorganisms. The most important are endomycorrhizal fungi *Rhizophagus* spp. and *Glomus* spp. as well as endophytes of the genus *Epichloë*. The first two penetrate the roots and develop there together with the plant. In soil, they can survive thanks to special spores. On the other hand, *Epichloë* spp. are specialized endosymbionts that grow exclusively inside the living plant, in its above-ground parts. They are transmitted vertically with grass seeds or horizontally by vegetative reproduction. The presence of these endophytes determines the plant's higher resistance to numerous stress factors, both biotic and abiotic. The associations of grasses with endophytes are usually more persistent in the environment and are more resistant to drought and soil nutrient deficiencies. They are also less susceptible to infection by pathogens and pest preying. However, grasses inhabited by endophytes can pose a threat to livestock due to the production of harmful toxins. "Safe" associations are those inhabited by selected endophytes, the so-called novel endophytes. They are used in the process of creating symbiotically modified grasses. However, the introduction of such endophytes to the plant requires prior removal of harmful, "wild" endosymbionts naturally occurring in the cultivar. The eradication process is very difficult and time-consuming. It is usually carried out with the use of fungicides or high temperature. Therefore, it is purposeful to search for new, more effective and environment friendly methods. So, research was started on the development of a new technology for eradication of grass endophytes using low-temperature plasma. Currently, work is underway to optimize the operating parameters of the plasma generator, i.e. power and exposure time. The research is conducted on perennial ryegrass of the Bajka cultivar, which consists of 13 breeding lines. Plasma treated seeds are placed on Petri dishes with PDA (Potato Dextrose Agar) medium and also are sowed in pots filled with peat substrate. The seed and plant material are subjected to microscopic and molecular analyzes to determine the effectiveness of the method used. Preliminary results indicate the possibility of using cold plasma to eradicate the perennial ryegrass endophyte. The conducted research is a part of the project: "Launching innovative cultivar of perennial ryegrass colonised by symbiotic endophytic fungi" implemented by the NOVA TRAWA consortium, under Action M16 "Cooperation" managed by the Agency for Restructuring and Modernisation of Agriculture (Rural Development Program for 2014-2020).