

# Autoreferat

## 1. Imię i nazwisko

Karolina Górzyńska

## 2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

- **Dyplom magistra biologii** uzyskany na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu w 2007 r. (studia w ramach Indywidualnego Toku Studiów, kierunek biologia specjalność ekologia i zarządzanie zasobami przyrody); tytuł pracy magisterskiej: „Grzyb *Epichloë typhina* w populacjach kupkówki *Dactylis glomerata*: występowanie, wielkość pasożyta i jego zależności z muchówką z rodzaju *Botanophila*”; promotor: prof. dr hab. Marlena Lembicz
- **Dyplom doktora nauk biologicznych w zakresie ekologii – ekologii ewolucyjnej** – stopień nadany przez Radę Wydziału Biologii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu (25.05.2012); tytuł rozprawy doktorskiej: „Interakcja grzyb (*Epichloë* sp.) – muchówka (*Botanophila* sp.) w populacjach dziko rosnących gatunków traw”; promotor: prof. dr hab. Marlena Lembicz

## 3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu

- 1.10.2012 – 30.06.2013 – adiunkt naukowo-dydaktyczny, Wydział Biologii, Instytut Biologii Środowiska, Zakład Taksonomii Roślin\*, 1/2 etatu
- 1.07.2013 – 30.06.2015 – adiunkt naukowo-dydaktyczny, Wydział Biologii, Instytut Biologii Środowiska, Zakład Taksonomii Roślin\*, pełny etat, ½ etatu finansowana ze środków projektu POMOST Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej
- 1.07.2015 – 30.08.2015 – adiunkt naukowo-dydaktyczny, Wydział Biologii, Instytut Biologii Środowiska, Zakład Taksonomii Roślin\*, 1/2 etatu
- od 1.10.2015 do teraz – adiunkt naukowo-dydaktyczny, Wydział Biologii, Instytut Biologii Środowiska, Zakład Taksonomii Roślin\*, pełny etat, 17.07.2019 – 14.07.2020 – urlop macierzyński i rodzicielski

\* obecna nazwa Zakładu: Zakład Botaniki Systematycznej i Środowiskowej

#### 4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2023 poz. 742 ze zm).

##### 4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Mykopasożyty – potencjalni biokontrolerzy w ograniczaniu „choke disease”, choroby traw wywołanej grzybami z rodzaju *Epichloë*

##### 4.2. Lista publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe

- (1) Górzyńska K., Ślachetka M., Ryszka P., Turnau K., Płachno B.J., Lembicz M. (2018) Incidence, Identification, and Mycoparasitic Activity of *Clonostachys epichloë*, a Hyperparasite of the Fungal Endophyte *Epichloë typhina*. *Plant Disease* 102:1973-1980. **Załącznik 5A**

IF<sub>2018</sub>=3.583 (IF<sub>2022</sub>=4.5); 35 pkt. MNiSW

*Udział w powstaniu publikacji: współautorstwo koncepcji pracy, zbiór materiału w terenie, izolacja szczepów grzybów i ich identyfikacja, opracowanie eksperymentów, wykonanie eksperymentu dotyczącego sztucznej infekcji podkładek E. typhina grzybem C. epichloë, analiza statystyczna wyników i ich interpretacja, pierwszy draft manuskryptu, przygotowanie tekstu manuskryptu (z wyjątkiem części metod i wyników dotyczących analizy mikroskopowej i badań filogenetycznych oraz dyskusji, napisanej wspólnie z prof. dr hab. Marleną Lembicz), edycja manuskryptu według wskazań czasopisma, kierownik projektu, w ramach którego prowadzono badania, autor korespondencyjny.*

- (2) Węgrzyn E., Górzyńska K. (2019) Influence of the fungal hyperparasite *Trichoderma harzianum* on the growth of *Epichloë typhina*, an agent of choke disease in grasses. *Journal of Plant Diseases and Protection* 126:39-45. **Załącznik 5B**

IF<sub>2019</sub>=1.526 (IF<sub>2022</sub>=2.0); 40 pkt. MNiSW

*Udział w powstaniu publikacji: koncepcja pracy, projekt eksperymentów, analiza statystyczna danych, interpretacja wyników, pierwszy draft manuskryptu, przygotowanie tekstu manuskryptu (wstęp i dyskusja – wspólnie ze współautorką mgr Ewą Węgrzyn), edycja manuskryptu według wskazań czasopisma, kierownik projektu, w ramach którego prowadzono badania, autor korespondencyjny.*

- (3) Górzyńska K. (2020) Effects of the *Clonostachys epichloë* fungal hyperparasite on the symbiotic interaction between *Botanophila* flies and *Epichloë* fungus. *Journal of Invertebrate Pathology* 174:107396. **Załącznik 5C**  
IF<sub>2020</sub>=2.841 (IF<sub>2022</sub>=3.4); 140 pkt. MNiSW  
*Udział w powstaniu publikacji: wszystkie elementy badań (koncepcja, wykonanie badań, analiza danych, przygotowanie tekstu całego manuskryptu oraz jego edycja według wskazań czasopisma, autor korespondencyjny).*
- (4) Górzyńska K., Olejniczak P., Węgrzyn E. (2023) The fungus *Clonostachys epichloë* alters the influence of the *Epichloë endophyte* on seed germination and the biomass of *Puccinellia distans* grass. *Frontiers in Microbiology* 14:1146061. **Załącznik 5D**  
IF<sub>2022</sub>=5.2; 140 pkt. MNiSW  
*Udział w powstaniu publikacji: koncepcja pracy, przeprowadzenie badań terenowych, projekt i wykonanie eksperymentu, częściowa analiza danych (dotyczących badań terenowych – sekcja 3.1), interpretacja wyników, pierwszy draft manuskryptu, przygotowanie tekstu manuskryptu (oprócz sekcji 2.4 i 3.2. oraz części wstępu), edycja manuskryptu według wskazań czasopisma (oprócz literatury), kierownik projektu, w ramach którego prowadzono badania, autor korespondencyjny.*

Wartości współczynnika Impact Factor (IF) pochodzą z bazy Journal Citation Report (JCR) z roku wydania publikacji. Punktacja MNiSW artykułów pochodzi z list z następujących komunikatów MNiSW: z dnia 17 lipca 2023 r. dla artykułu z 2023 roku; z dnia 18 grudnia 2019 r. dla artykułów z 2020 i 2019 roku oraz z dnia 25 stycznia 2017 r. dla artykułu z 2018 roku.

Badania, których wyniki zostały zamieszczone w powyższych publikacjach, finansowane były z grantu SONATA Narodowego Centrum Nauki nr UMO-2014/13/D/NZ8/02420 na lata 2015-2018, którego byłam kierownikiem (pozycje 1-3 w całości, pozycja 4 – z wyjątkiem części mikroskopowej sfinansowanej z badań statutowych Zakładu Cytologii i Embriologii Roślin Instytutu Botaniki Uniwersytetu Jagiellońskiego); koszty publikacji *open access* pozycji 1 i 4 były pokryte z dodatkowych źródeł – KNOW Poznańskie Konsorcjum RNA oraz „Inicjatywa doskonałości – Uczelnia Badawcza” ID-UB UAM). Oświadczenia współautorów prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego zamieszczono w załącznikach 5A-5D.

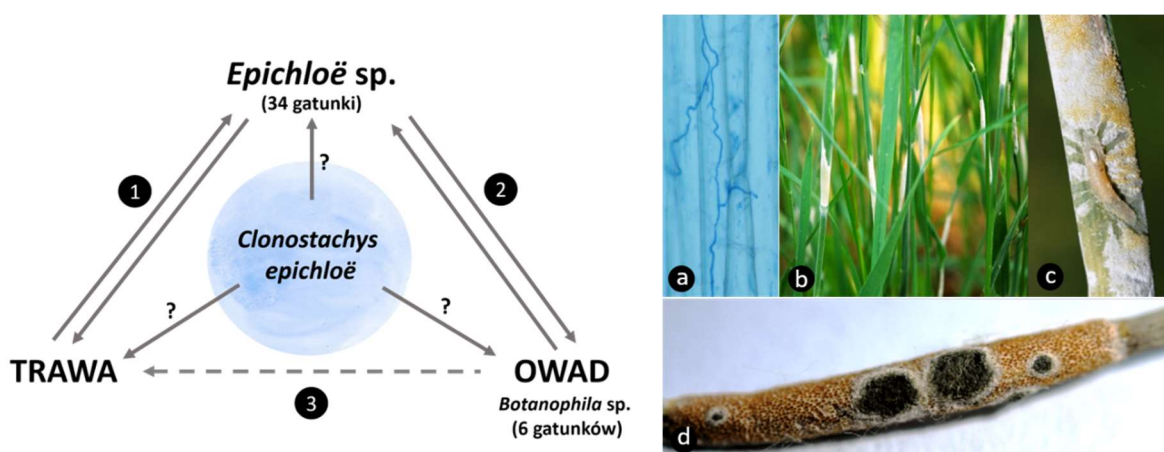
### 4.3. Opis osiągnięcia naukowego

#### Problem i cele badań

Choroba traw nazywana „choke disease” jest wywoływana przez grzyby endofityczne z rodzaju *Epichloë*, zasiedlające bezobjawowo tkanki nadziemnych części roślin i rozprzestrzeniające się wertykalnie poprzez nasiona gospodarza. Jest to szczególna grupa endofitów, ponieważ część gatunków oprócz formy endofitycznej, wytwarza również zewnętrzne struktury – podkładki, które blokują („zaduszają” – ang. „choke”) wytwarzanie kwiatostanów i nasion przez zainfekowaną trawę (Fig. 1). Co więcej, podkładki odpowiedzialne są za horyzontalne rozprzestrzenianie się grzyba. W procesie płciowym, w który zaangażowane są muchówki z rodzaju *Botanophila*, na ich powierzchni formują się owocniki, z których uwalniane są zarodniki (askospory) infekujące nowe osobniki traw (Fig. 1).

Znane są straty ekonomiczne w uprawach opartych na hodowli traw spowodowane chorobą „choke disease”. W Stanach Zjednoczonych na terenie Willamette Valley w stanie Oregon, 90% pól uprawnych kupkówki pospolitej (*Dactylis glomerata*) było zainfekowanych podkładkami *Epichloë*, a straty wynikające z ich obecności wynosiły ponad 820,000 \$ w skali roku (Pfender i Alderman 2006). We Francji podkładki pojawiały się już w pierwszym roku uprawy i w czwartym roku infekowały 30% wszystkich pędów sprawiając, że dane miejsce stawało się nieopłacalne w użyciu (Raynal 1991). Straty oszacowano również w Czechach, gdzie podkładki *Epichloë* notowano we wszystkich regionach upraw traw *D. glomerata* oraz *Phleum pratense* i *P. nodosum*. Wyniosły one 2.5 milionów CZK w 2008 r., nie wliczając w to kosztów związanych z likwidacją zarażonych stanowisk i założeniem nowych (Cagaš i Macháč 2012). Próby ograniczenia rozprzestrzeniania się tej choroby nie przyniosły na razie rezultatów. Zastosowanie środków chemicznych takich jak propikonazol i azoksystrobina (Pfender i Alderman 2003), czy też fungicydów opartych na związkach miedzi – Kocide 3000 i Copper-Count N (Alderman et al. 2008), nie były zadowalające. Satysfakcjonujące wyniki dała częsta rotacja upraw oraz aktualnie zakazane, wypalanie łąk (Pfender i Alderman 2003). Pojawiły się również doniesienia, że inne grzyby obecne na podkładkach *Epichloë* mogą stać się efektywnymi środkami biokontroli „choke disease”. Alderman et al. (2010) odkryli, że podkładki grzyba *E. typhina*, obecne na pędach kupkówki pospolitej *Dactylis glomerata*, zainfekowane są grzybowym hiperparazytem *Dicyma pulvinata*. Takie podkładki były skarłowaciałe i miały mniej infekcyjnych zarodników odpowiedzialnych za transfer horyzontalny w stosunku do podkładek bez hiperparazyta. Niestety, były to jednorazowe badania i brak ich kontynuacji.

Grzyby z rodzaju *Epichloë* są endofitami – kolonizują bezobjawowo nadziemne części traw, wykorzystując ich nasiona do transmisji pionowej – z pokolenie na pokolenie. Znanych jest aktualnie 34 gatunków *Epichloë* (Tadych et al. 2014). Zainteresowanie grzybami *Epichloë* wynika z trzech faktów: (1) trawy zainfekowane endofityczną formą *Epichloë* wykazują szczególne cechy, dające im przewagę w stosunku do traw bez endofita; (2) niektóre gatunki wytwarzają wiosną struktury zewnętrzne „zaduszające” kwiatostany swoich gospodarzy – stają się pasożytami; (3) grzyby te produkują mykotoksyny negatywnie oddziałujące na roślinożerców, w tym na zwierzęta hodowlane żywiące się trawami z endofitem. Intensywne badania pokazały, że wpływ grzybów na kolonizowane trawy nie jest jednoznaczny, oraz że zależy on od wielu czynników. Z tego względu, w zależności od kontekstu, interakcja trawa-endofit *Epichloë* może oscylować pomiędzy mutualizmem a pasożytnictwem.



**Fig. 1 Sieć interakcji trawa-grzyb-owad:** (1) grzyb *Epichloë* jako endofit (a) wykorzystuje trawę jako miejsce życia a kolonizując jej nasiona, rozprzestrzenia się wertykalnie (następne pokolenie trawy będzie również zainfekowane grzybem); stadium to wpływa na cechy historii życia trawy (wpływ jest niejednoznaczny i oscyluje między mutualizmem a pasożytnictwem); stadium płciowe grzyba *Epichloë* – podkładka (b), hamuje rozwój kwiatostanów trawy (jest pasożytem) oraz stanowi źródło infekcyjnych zarodników odpowiedzialnych za transfer horyzontalny grzyba (infekują one nowe osobniki traw); (2) muchówki *Botanophila* umożliwiają krzyżowe zapłodnienie *Epichloë*, przenosząc zarodniki pomiędzy podkładkami o przeciwnym typie reprodukcyjnym, wykorzystując je również jako miejsce do złożenia jaj a podkładka staje się następnie miejscem życia oraz źródłem pokarmu dla rozwijających się larw (c); (3) muchówki *Botanophila* pośrednio wpływają na trawę poprzez umożliwianie rozmnażania płciowego *Epichloë*, w wyniku czego grzyb rozprzestrzenia się na nowe osobniki rośliny. Na wszystkie te elementy interakcji oddziałuje grzyb *Clonostachys epichloë* (d). (Fot. K. Górzyńska – a, c, d i Z. Olszanowski – b).

Celem moich badań było sprawdzenie, czy grzyb *Clonostachys*, naturalnie występujący na podkładkach *Epichloë*, może być wykorzystany jako biokontroler w celu ograniczania choroby „choke disease”. Zastosowałam przy tym kompleksowe podejście, traktując grzyba *Epichloë* jako element sieci interakcji, w jakie jest uwikłany (Fig. 1). W 2015 r. rozpoczęłam badania, poszukując odpowiedzi na pytania:

- (1) Jakie są efekty obecności grzyba *C. epichloë* na strukturach płciowych (podkładkach) grzybów *Epichloë* powodujących „choke disease” oraz jak *C. epichloë* wpływa na jego formę endofityczną?
- (2) Czy i jak *C. epichloë* wpływa na trawę – gospodarza *Epichloë*? Wiele gatunków z rodzaju *Clonostachys* oprócz aktywności mykopasożytniczej jest również endofitami roślin (Schroers 2001), podobnie może być w przypadku *C. epichloë*.
- (3) Jak *C. epichloë* wpływa na muchówki *Botanophila* – owady uznawane za wektory umożliwiające rozmnażanie płciowe *Epichloë* i wytworzenie infekcyjnych askospor odpowiadających za horyzontalne rozprzestrzenianie się grzyba? Podkładki *Epichloë* to miejsce rozwoju muchówek więc obecność mykopasożyta *C. epichloë* może wpływać na ich cykl życiowy.

Wykorzystanie grzybowych hiperpasożytów do ograniczenia rozprzestrzeniania „choke disease” jest obiecujące z dwóch względów: (1) zjawisko mykopasożytnictwa jest częste w naturze (Jeffries i Young 1994); (2) istnieją już na rynku preparaty tego typu, z powodzeniem stosowane komercyjnie np. biofungicyd Trichodex WP (Makhteshim Chemical Works, LTD). Powstał on na bazie aktywnych spor grzyba *Trichoderma harzianum* i wykorzystywany jest do zwalczania m. in. *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* czy też *Cladosporium fulvum* (Elad 2000) – grzybów pasożytniczych upraw roślinnych. Jednocześnie należy pamiętać, że grzyb *Epichloë* wywołujący „choke disease” nie jest samodzielny bytem. Takie podejście jest konieczne, ponieważ jedyne całościowa analiza wpływu nowego elementu – mykopasożyta – w omawianym układzie trawa-grzyb-owad, daje nam odpowiedź na pytanie o zasadność dalszych badań nad potencjalnym zastosowaniem grzyba *Clonostachys* jako biofungicydu przeciwko „choke disease”.

## Omówienie uzyskanych wyników

### I. Interakcje mykopasożyt-grzyb *Epichloë*

#### Praca nr 1

Górzyńska K., Ślachetka M., Ryszka P., Turnau K., Płachno B.J., Lembicz M. (2018) Incidence, Identification, and Mycoparasitic Activity of *Clonostachys epichloë*, a Hyperparasite of the Fungal Endophyte *Epichloë typhina*. Plant Disease 102:1973-1980. **Zał. 5A**

#### Praca nr 2

Węgrzyn E., Górzyńska K. (2019) Influence of the fungal hyperparasite *Trichoderma harzianum* on the growth of *Epichloë typhina*, an agent of choke disease in grasses. Journal of Plant Diseases and Protection 126:39-45. **Zał. 5B**

Grzyb *Clonostachys epichloë* był wcześniej notowany na obumarłych liściach paproci *Pteridium aquilinum* i traw, np. *Sasa* sp. (Schroers 2001). Był też notowany na podkładkach *Epichloë* w Ameryce, Azji (Schroers 2001) i Europie (Kirchner 2006; Steinebrunner et al. 2008), ale choć określany jako mykopasożyt, skala jego występowania czy też dokładny wpływ na grzyba *Epichloë* nie był badany. Poznanie tych faktów było celem pierwszej pracy (Zał. 5A), w której po raz pierwszy zbadano interakcję *Epichloë-Clonostachys*.

Interakcja pomiędzy grzybem *C. epichloë* a stadium płciowym *Epichloë typhina* (podkładką) okazała się być interakcją pasożytniczą. Obecność *C. epichloë* zanotowano we wszystkich trzech populacjach trawy *Puccinellia distans* zainfekowanych grzybem *E. typhina* a procent zainfekowanych podkładek wynosił od 4.1 do 13.8%, w zależności od stanowiska. Grzyb ten najczęściej zajmował mniej niż 25% powierzchni podkładek (70% wszystkich zainfekowanych podkładek). Analiza mikroskopowa pokazała, że podkładki *Epichloë* zainfekowane grzybem *C. epichloë* wykazywały brak worków z askosporami w perytecjach w miejscach występowania jego mycelium. Askospory odpowiedzialne są za infekowanie nowych osobników traw, obecność *C. epichloë* przyczynia się więc do obniżenia rozprzestrzeniania się grzybów *Epichloë*. Występujący naturalnie na podkładkach *Epichloë* hiperpasożyt *C. epichloë* ma więc szansę by być w przyszłości wykorzystany w biokontroli „choke disease”. Badania wskazują jednak na istnienie pewnych ograniczeń – w eksperymencie polegającym na sztucznej inokulacji podkładek hiperpasożytem, na ani jednej podkładce nie zanotowano rozwoju jego mycelium. W eksperymencie wykorzystano różne stężenia zarodników w zawieszynie inokulacyjnej a inokulacji dokonywano na różnym etapie rozwoju podkładek. Wyniki te sugerują istnienie mechanizmów obronnych u grzyba *E. typhina*.

Wpływ grzyba *C. epichloë* na stadium bezpłciowe *E. typhina* również okazał się niekorzystny. Badania prowadzone w warunkach *in vitro* pokazały, że *C. epichloë* hamuje

wzrost *E. typhina* – procent inhibicji wynosił od 18.40 do 46.50%, w zależności od użytych konfiguracji szczepów. Hiper Pasożyt był też w stanie skolonizować mycelium *E. typhina*, przy czym zdolność kolonizacyjna jednego ze szczepów była istotnie niższa niż pozostałych dwóch. Stadium bezpłciowe *E. typhina* rośnie bezobjawowo w tkankach rośliny a wiele gatunków z rodzaju *Clonostachys* jest również klasyfikowanych jako endofity roślin (Schroers 2001). Sprawdzone więc, czy uda się wprowadzić grzyba *C. epichloë* do wnętrza rośliny, tak aby obserwować interakcję pomiędzy dwoma grzybami w warunkach *in vivo*. Niestety, mimo zastosowania kilku standardowych metod inokulacji roślin (poprzez nasiona, poprzez mikro-uszkodzenia liści oraz poprzez znamiona kwiatów) nie udało się wprowadzić grzyba *C. epichloë* do wnętrza roślin, zarówno tych zainfekowanych stadium bezpłciowym *E. typhina*, jak i tych pozbawionych grzyba. Wskazuje to, podobnie jak w przypadku interakcji pomiędzy hiper Pasożytem a stadium płciowym *E. typhina*, na istnienie mechanizmów obronnych, przy czym w tym przypadku sytuacja komplikuje się, ponieważ również roślina – gospodarz *E. typhina*, może odgrywać w tych mechanizmach kluczową rolę.

W drugiej pracy (Zał. 5B) zbadano działanie mykopasożyta *Trichoderma harzianum* na grzyba *E. typhina*. Grzyb *T. harzianum* jest gatunkiem z powodzeniem wykorzystywanym komercyjnie jako składnik biofungicydu Trichodex WP (Makhteshim Chemical Works, LTD), wykazującym działanie przeciwko takim pasożytom roślinnym jak *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* czy też *Cladosporium fulvum* (Elad 2000). Wyniki eksperymentów pokazały, że grzybnia *E. typhina* rosła wolniej w obecności *T. harzianum*; grzyb ten wykazywał również silne zdolności hiper Pasożytnicze w stosunku do grzybni *E. typhina*. W przypadku wszystkich szczepów *E. typhina* (wyizolowanych z trawy *P. distans* z trzech różnych stanowisk) notowano inhibicję wzrostu – wzrost mycelium rosnącego na szalkach z *T. harzianum* było dwukrotnie mniejsze niż w kontroli. Notowano również charakterystyczne dla mykopasożytów okręcanie się wokół grzybni swoich ofiar – tworzenie spiralnych strzępek tzw. „coils”, będących inicjalnym etapem interakcji mykopasożytniczej.

### Podsumowanie

- Obecny na podkładkach *Epichloë* grzyb *Clonostachys epichloë* jest mykopasożytem powodującym całkowitą blokadę rozmnażania płciowego w miejscach swojego występowania – brak worków z askosporami odpowiedzialnymi za rozprzestrzenianie się „choke disease”.



- Grzyb *C. epichloë* niekorzystnie wpływa również na wzrost bezpłciowej formy grzyba *E. typhina* – w warunkach *in vitro* powoduje nie tylko inhibicję jego wzrostu, ale także jest w stanie przerosnąć jego grzybnię.
- Inny, wykorzystywany już komercyjnie grzybowy mykopasożyt – *T. harzianum*, również wykazuje działanie ograniczające wzrost *E. typhina*.
- Otrzymane wyniki są przydatne do opracowania aplikacyjnych zastosowań mykopasożytów w zwalczaniu „choke disease”, jednak ze względu na skomplikowany układ ekologiczny (grzyb-trawa-owad), konieczne jest zbadanie wpływu *C. epichloë* również na pozostałe elementy interakcji.

## II. Interakcje mykopasożyt-muchówka *Botanophila*

### Praca nr 3

Górzyńska K. (2020) Effects of the *Clonostachys epichloë* fungal hyperparasite on the symbiotic interaction between *Botanophila* flies and *Epichloë* fungus. *Journal of Invertebrate Pathology* 174:107396. (Zał. 5C)

Obecność mykopasożyta na powierzchni podkładek *Epichloë* może mieć wpływ na inne organizmy, które się na niej pojawiają. Jednym z nich są muchówki z rodzaju *Botanophila*, które wykorzystują podkładkę jako miejsce złożenia jaj, rozwoju larw oraz źródło pokarmu. Jednocześnie, odwiedzając różne podkładki, umożliwiają ich krzyżowe zapłodnienie i rozwój infekcyjnych askospor. Celem pracy nr 3 (Zał. 5C) było określenie wpływu mykopasożyta *C. epichloë* na muchówki *Botanophila*. Jest to pierwsze doniesienie o tym grzybie jako entomopatogenie.

Wyniki otrzymane w ramach badań wskazały, że grzyb *C. epichloë* zmniejsza sukces wykluwania jaj *Botanophila* oraz zwiększa śmiertelność wykłutych larw. Co więcej, larwy które przeżyły a żywiły się grzybem *Clonostachys*, miały mniejszą masę od larw żywiących się podkładką *Epichloë*. Finalnie, z powodu obecności grzyba *C. epichloë* na podkładkach *Epichloë*, liczba potomstwa muchówek zmniejszyła się o ponad 50%. Liczba ta może być niedoszacowana, ponieważ część larw, które przeżyły, miały w swoim wnętrzu mycelium *Clonostachys* choć nie wykazywały żadnych zewnętrznych oznak infekcji grzybem.

Mniejsza liczba potomstwa muchówek *Botanophila* wpływa na rozprzestrzenianie się „choke disease”. Z jednej strony, zmniejsza się liczba wektorów, dzięki którym grzyb rozmnaża się płciowo i wytwarza infekcyjne askospory, a więc zmniejsza się jego rozprzestrzenianie. Z drugiej strony, muchówki (zarówno osobniki dorosłe jak i rozwijające się larwy), zjadają część podkładki, również tej zapłodnionej, na której formują się infekcyjne askospory. Grzyb

*Clonostachys*, zmniejszając liczbę larw, potencjalnie zwiększa więc liczbę askospor i zdolności *Epichloë* do infekowania nowych osobników. Dodatkowo, *Clonostachys* wpływa również bezpośrednio na grzyba *Epichloë* – poprzez swoje mykopasożytnicze właściwości, zmniejsza liczbę askospor (praca nr 1, zał. 5A). Wyniki otrzymane w tej pracy wskazują, że negatywny wpływ na liczbę askospor jest podobny w przypadku obu czynników (mykopasożyt *Clonostachys* vs. żerowanie larw) i ich działanie się sumuje. W rezultacie, to właśnie podkładowki, na których obecne były zarówno larwy *Botanophila* jak i grzyb *Clonostachys* wykazywały najmniejszą liczbę owocników z askosporami, co jest sytuacją najbardziej pożądaną w przypadku chęci ograniczenia rozprzestrzeniania się „choke disease”.

Grzybowe pasożyty notowane były już wcześniej w związku z muchówkami z rodzaju *Botanophila*, ale nie były to gatunki owadów żyjące w symbiozie z grzybami *Epichloë* – zanotowano m. in. grzyba *Strongwellsea castrans* na dorosłych osobnikach *Botanophila fugax* (Eilenberg et al. 2021). Jest to więc pierwsze doniesienie o entomopatogenicznym grzybie infekującym muchówki z rodzaju *Botanophila* związane z grzybami *Epichloë*. Analizowany gatunek grzyba – *C. epichloë* – należy do rodzaju obfitującego w grzyby entomopatogenne, np. gatunek *C. rosea* notowany był jako pasożyt m. in. *Diaphorina citri* – owadów atakujących cytrusy i będących wektorami przenoszącymi bakterie *Candidatus Liberibacter asiaticus*, odpowiedzialne za chorobę cytrusów zwaną zieleńieniem (Yang et al. 2021). Z tego też powodu jest jednym z najbardziej obiecujących gatunków, który może być użyty w biokontroli owadów – szkodników upraw (Sun et al. 2020).

Analizując otrzymane wyniki, pamiętać należy o tym, że niektóre gatunki *Epichloë* nie są zależne w 100% od zapłodnienia poprzez muchówki *Botanophila*. Notowano np. przypadki tzw. „ascosporic fertilization”, gdy askosporry pochodzące z wcześniej zapłodnionych podkładek, przenosząc się poprzez wiatr, doprowadzały do zapłodnienia nowych podkładek (Alderman i Rao 2008). Do transferu zarodników pomiędzy podkładowkami może również dojść poprzez bezpośredni ich kontakt, jeśli trawy rosną gęsto blisko siebie (Rao i Baumann 2004). Nie wyklucza się również możliwości wystąpienia samozapłodnienia (Bultman i Leuchtman 2008). W takich układach, grzyb *Clonostachys* będzie zwiększał śmiertelność larw (zmniejszy się ich żerowanie i będzie więcej askospor) i obniży liczbę osobników dorosłych, lecz niekoniecznie wpłynie to na efektywność rozmnażania płciowego *Epichloë* i produkcję infekcyjnych zarodników. Może się więc okazać, że w takich sytuacjach efekt obecności *Clonostachys* będzie diametralnie inny niż w układach obligatoryjnych.

## Podsumowanie

- Grzyb *Clonostachys* wykazuje właściwości entomopatogenne w stosunku do muchówek *Botanophila*, zmniejszając liczbę ich potomstwa.
- W układach obligatoryjnych, w których muchówki *Botanophila* są niezbędne do procesu płciowego grzyba *Epichloë*, wpływ grzyba *Clonostachys* na rozprzestrzenianie się „choke disease” będzie większy.
- Otrzymane wyniki są przydatne do opracowania aplikacyjnych zastosowań grzyba *Clonostachys* w zwalczaniu “choke disease” poprzez negatywne oddziaływanie na wektora uruchamiającego cykl płciowy grzyba, lecz konieczne jest wzięcie pod uwagę charakteru interakcji owad-grzyb.

## III. Interakcje mykopasożyt-trawa

### Praca nr 4

Górzyńska K., Olejniczak P., Węgrzyn E. (2023) The fungus *Clonostachys epichloë* alters the influence of the *Epichloë* endophyte on seed germination and the biomass of *Puccinellia distans* grass. *Frontiers in Microbiology* 14:1146061. (Zał. 5D)

Grzyb *Clonostachys epichloë*, po raz pierwszy notowany na podkładkach grzybów *Epichloë* (praca nr 1, Zał. 5A), obecny był również na nasionach mannicy odstającej *Puccinellia distans*. Inne gatunki z rodzaju *Clonostachys*, np. *C. rosea*, notowane były jako endofity roślin (Schroers 2001), z tego też powodu w pracy nr 4 (Zał. 5D) sprawdzana była zdolność grzyba *C. epichloë* do kolonizowania trawy – gospodarza *Epichloë* oraz jego wpływ na kiełkowanie nasion i wzrost siewek.

Analizy pokazały, że *C. epichloë* nie wykazywał wzrostu endofitycznego – nie był on obecny ani w liściach mannicy, ani w jej nasionach. Jedyne miejsce jego występowania to powierzchnia nasion mannicy, należy więc do grupy tzw. „seed-borne fungi” – grzybów związanych z nasionami, obecnych na ich powierzchni i/lub w ich wnętrzu. Grzyb *Epichloë typhina* infekujący mannicy również należy do tej grupy, ale wykazuje wzrost endofityczny wewnątrz nasion, rozprzestrzeniając się w ten sposób na następne pokolenia traw. Taka sytuacja dała możliwość zbadania wpływu obecności *C. epichloë* na kiełkowanie nasion zarówno zainfekowanych *Epichloë* jak i wolnych od tego grzyba.

Wyniki otrzymane w eksperymentach pokazały, że zarówno *C. epichloë* jak i *E. typhina* zwiększają procent wykiełkowanych nasion, ale tylko gdy działają same. Gdy oddziałują na nasiona razem (nasiona Epi+Clo+) – wzajemnie znoszą swoje pozytywne działanie. Takie właśnie jednocześnie działanie ma najprawdopodobniej miejsce w naturze i oba te gatunki

współwystępują – wszystkie nasiona, na których zanotowano grzyba *Clonostachys*, pochodziły z osobników mannicy, w obrębie których część pędów była zainfekowana podkładkami *Epichloë* z obecnym mykopasożytem *Clonostachys*. Analizując wpływ *Clonostachys* na kiełkowanie nasion trawy w naturze, należy wziąć pod uwagę jeszcze jeden aspekt – transmisja pionowa nie jest nigdy w 100% efektywna i część nasion pochodzących z trawy z endofitem *Epichloë*, pozbawiona jest jego strzępek. Na takie nasiona *Clonostachys* oddziałuje pozytywnie, ale jest ich zbyt mało by kompensować roślinie straty wynikające z negatywnego wpływu *Clonostachys* w nasionach Epi+Clo+.

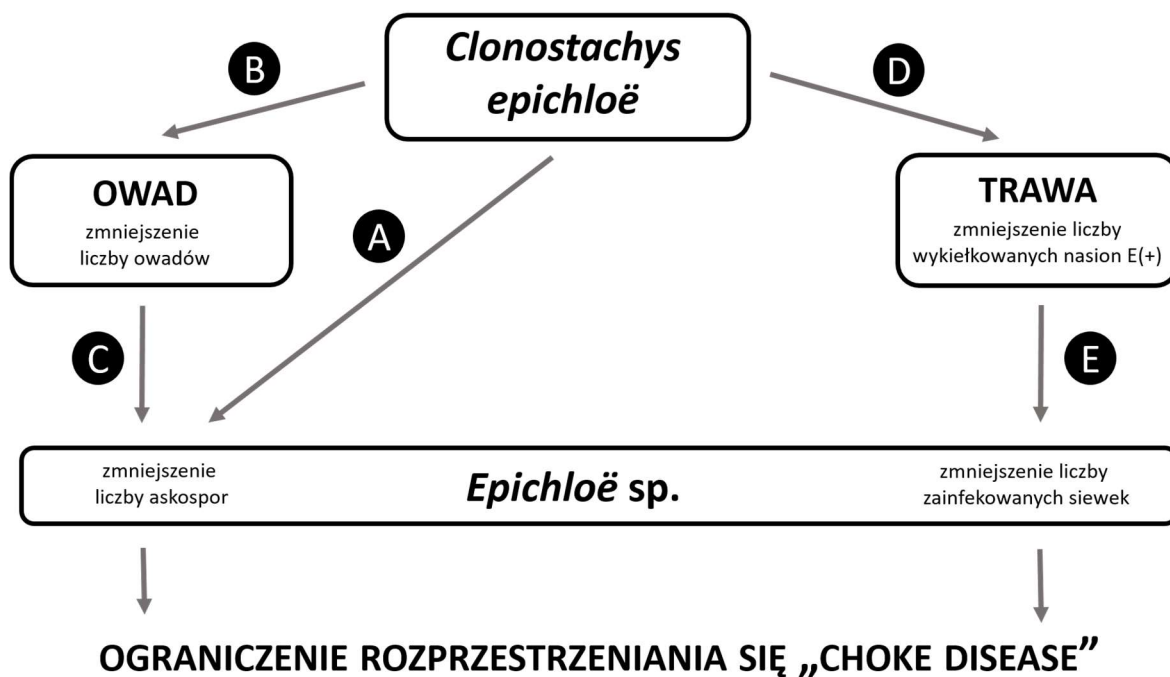
W wyniku analiz okazało się również, że nasiona zainfekowane oboma gatunkami grzyba (Epi+Clo+) dawały większe siewki niż nasiona, na które oddziaływał jedynie grzyb *Clonostachys* (Epi-Clo+). Taka przewaga nasion Epi+Clo+ może się jednak okazać dla rośliny jedynie chwilowa – mając w swoim wnętrzu strzępki *Epichloë*, powstająca roślina będzie również zainfekowana endofitycznym stadium *Epichloë* a zasiedlający je endofit może w przyszłości wytworzyć pasożytnicze stadium płciowe – podkładki, które uniemożliwią wytworzenie roślinie nasion. Nie wszystkie gatunki z rodzaju *Epichloë* wytwarzają stadium płciowe a u tych, które wytwarzają, notuje się zróżnicowaną liczbę zarażonych pędów trawy (czasem wszystkie, czasem tylko część). Z tego też powodu, finalny efekt obecności grzyba *C. epichloë* w zainfekowanych grzybami *Epichloë* populacjach traw będzie zależał od częstości wytwarzania przez tego grzyba stadium płciowego, czyli podkładek.

### Podsumowanie

- Grzyb *Clonostachys epichloë* należy do grupy tzw. „seed-borne fungi” – grzybów związanych z nasionami; nie kolonizuje jednak wnętrza nasion trawy, lecz występuje jedynie na ich powierzchni.
- Grzyb *C. epichloë* znosi pozytywny efekt obecności grzyba *E. typhina* na kiełkowanie nasion, ale zwiększa kiełkowanie, gdy działa jako jedyny czynnik.
- Grzyb *C. epichloë* wpływa pozytywnie na wielkość siewek, ale jedynie gdy współdziała z grzybem *E. typhina*.
- Określając wpływ *C. epichloë* na roślinę zarażoną grzybem *Epichloë*, należy wziąć pod uwagę biologię *Epichloë*, a w szczególności sposób jego rozmnażania – obecność rozmnażania płciowego oraz efektywność transmisji poprzez nasiona.

## Podsumowanie

Przedstawione wyniki badań wskazują, że grzyb *Clonostachys epichloë* jest mykopasożytem i ma potencjał, aby stać się ważnym środkiem biokontroli choroby traw „choke disease” wywołanej grzybami z rodzaju *Epichloë*. Jednocześnie, jest on entomopatogenem oraz grzybem należącym do tzw. „seed-borne fungi” – grzybów związanych z nasionami. Tak szeroki zakres możliwych siedlisk sprawia, że oddziałuje on nie tylko na grzyby *Epichloë*, ale również na owady, które uruchamiają ich cykl płciowy oraz na trawę – gospodarza grzyba. Podsumowując, mykopasożyt *C. epichloë* wpływa na wszystkie elementy omawianej interakcji trawa-grzyb-owad (Fig. 1, 2).



**Fig. 2** Mykopasożyt *Clonostachys epichloë* i jego wpływ na chorobę traw „choke disease”. Obecny na podkładkach *Epichloë* mykopasożyt redukuje liczbę infekcyjnych askospor odpowiedzialnych za rozprzestrzenianie się „choke disease” (A). Jednocześnie, będąc entomopatogenem muchówek *Botanophila*, zwiększa śmiertelność tych owadów (B), w efekcie zmniejsza się również liczba wytwarzanych askospor (C), ponieważ owady to wektory niezbędne w cyklu płciowym *Epichloë*, w wyniku którego te spory są tworzone. Grzyb *Clonostachys* oddziałuje również na trawę – gospodarza *Epichloë*. Obecny na powierzchni nasion zainfekowanych grzybem *Epichloë* (E+), znosi pozytywny wpływ endofita na ich kiełkowanie (D) i zmniejsza tym samym liczbę siewek zainfekowanych *Epichloë* (E), u których w przyszłości mogłoby pojawić się stadium płciowe tego grzyba. Wpływ *C. epichloë* na rozprzestrzenianie się „choke disease” polega więc na negatywnym oddziaływaniu zarówno na transmisję horyzontalną, jak i wertykalną grzybów *Epichloë*.

Rozważając użycie grzyba *C. epichloë* jako środka ograniczania choroby „choke disease”, należy wziąć pod uwagę skomplikowaną biologię grzyba *E. typhina*, który tą chorobę wywołuje i jego związki z innymi organizmami. Z jednej strony, *Clonostachys* wyraźnie zmniejsza liczbę askospor odpowiedzialnych za rozprzestrzenianie się grzyba *Epichloë*. Z drugiej jednak strony, wpływ na owada, który umożliwia wytworzenie tych infekcyjnych askospor oraz na roślinę, która jest gospodarzem *Epichloë*, zależy od kilku czynników. Do najważniejszych z nich należą: (1) obligatoryjność interakcji *Epichloë-Botanophila* – w układach obligatoryjnych, *Clonostachys* będzie zmniejszał rozprzestrzenianie „choke disease” poprzez redukcję liczby owadów niezbędnych w cyklu płciowym *Epichloë*; oraz (2) częstość wytwarzania struktur płciowych przez grzyba *Epichloë* – w przypadku małej liczby podkładek w danej populacji trawy, grzyb *Clonostachys* będzie oddziałował w większym stopniu na roślinę – gospodarza *Epichloë* (Fig. 2). Podsumowując, w tak skomplikowanych układach, jakiego częścią jest grzyb *C. epichloë*, zastosowanie jakichkolwiek środków zaradczych, w tym biofungicydów, wymaga holistycznego podejścia i dokładnej analizy ich wpływów na wszystkie elementy składowe.

#### 4.4. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

##### Osiągnięcia uzyskane przed uzyskaniem stopnia doktora

Moje zainteresowania badawcze od samego początku oscylowały wokół interakcji międzygatunkowych. Celem mojej pracy doktorskiej, wykonanej pod opieką prof. dr hab. Marleny Lembicz, było dostarczenie faktów pomocnych w rozstrzygnięciu sporu o typ interakcji między grzybami z rodzaju *Epichloë* a muchówkami z rodzaju *Botanophila*. W toku pracy wykazałam, że rola muchówek w cyklu płciowym *Epichloë* zależy nie tylko od gatunku grzyba, ale może się również zmieniać w czasie i przestrzeni. W większości przypadków wyniki nie negowały występowania mutualistycznego związku pomiędzy owadem a grzybem, nie potwierdzały jednak jego obligatoryjności. Wyniki te stały się podstawą dwóch publikacji (Górzyńska et al. 2010; Górzyńska et al. 2011). Wykazałam również obecność trzech różnych gatunków muchówek z rodzaju *Botanophila* związanych z grzybami *Epichloë* w Polsce (w tym jeden z nich – *B. lobata* – nowy dla fauny Polski) i potwierdziłam hipotezę dotyczącą braku istnienia ścisłej specyficzności gatunkowej pomiędzy grzybem a owadem. Te wyniki również zostały opublikowane (Lembicz et al. 2013). Trzeci znaczący wynik to stwierdzenie, że preferencje muchówek z rodzaju *Botanophila* w stosunku do długości podkładek grzybów z rodzaju *Epichloë* są różne w zależności

od konkretnego układu trawa – grzyb, mogą zmieniać się w czasie, nie wykazując wyraźnych tendencji i nie mają wpływu na dalsze losy muchówek *Botanophila* (wykluwanie i kondycję larw – ich wagę i przeżywanie). Wyniki te opublikowane zostały w 2014 roku (Górzyńska et al. 2014). W przeprowadzeniu tych badań pomogły mi fundusze zdobyte w ramach grantu własnego Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr NN303 321237 na lata 2009-2012, którego byłam kierownikiem oraz współpraca z prof. dr hab. Ziemowitem Olszanowskim, który jako pierwszy odkrył występowanie muchówek *Botanophila* związanych z grzybami *Epichloë* w Polsce.

W czasie studiów doktoranckich brałam również udział w badaniach w ramach grantu kierowanego przez prof. dr hab. Marlenę Lembicz (grant MNiSW nr NN303472138 „Trawy pastwisk i upraw polowych zasiedlone przez grzyby endofityczne: ekologiczne i chemiczne efekty interakcji”), mających na celu określenie stopnia infekcji grzybem *Epichloë typhina* populacji trawy *Puccinellia distans* oraz efektów jego obecności, w szczególności jego stadium płciowego – podkładek (Lembicz et al. 2011). Badania te dotyczyły też zmian alokacji zasobów trawy *P. distans* pod wpływem infekcji grzybem endofitycznym *E. typhina* (Czarnoleski et al. 2012). Brałam również udział w badaniach, podczas których odkryto obecność grzyba *Epichloë* w dwóch populacjach trawy *Elymus repens* oraz dokonano jego identyfikacji przy użyciu metod molekularnych do gatunku *Epichloë bromicola* (Lembicz et al. 2010).

### **Osiągnięcia uzyskane po uzyskaniu stopnia doktora**

Doświadczenia zdobyte poprzez udział w wyżej opisanych badaniach ugruntowały moją wiedzę dotyczącą interakcji pomiędzy trawami, grzybami z rodzaju *Epichloë*, oraz muchówkami *Botanophila*. W trakcie wykonywania zadań w ramach pracy doktorskiej, na niektórych podkładkach *Epichloë* zauważyłam ciemne plamy, które okazały się być mycelium grzyba *Clonostachys epichloë*. Powszechność jego występowania oraz stopień pokrycia podkładek tym grzybem sprawiły, że mogłam zaplanować badania mające na celu określenie jego wpływu na grzyby *Epichloë*, w szczególności na jego stadium płciowe, wywołujące chorobę „choke disease”. Wykonanie tych badań było możliwe dzięki zdobyciu grantu w programie POMOST Fundacji na rzecz Nauki Polskiej (POMOST/2012-6/5), którego celem było umożliwienie naukowcom wychowującym małe dzieci powrotu do intensywnej pracy naukowej. Badania te następnie rozszerzyłam na pozostałe elementy układu trawa-grzyb-owad i zdobyłam kolejne finansowanie, tym razem w ramach konkursu SONATA (UMO-2014/13/D/NZ8/02420). Część wyników otrzymanych w ramach obu grantów została zawarta w publikacjach stanowiących cykl składający się na osiągnięcie naukowe przedstawione przez

mnie jako podstawa do wszczęcia procedury habilitacyjnej (dokładny opis artykułów i osiągnięć w punkcie 4.1., strona 2).

Oprócz badań nad rolą grzyba *Clonostachys* w układzie trawa-grzyb-muchówka, brałam również udział w badaniach nad wpływem obecności grzyba *E. typhina* na obecność innych grzybów, w tym również patogennych, w nasionach trawy *Puccinellia distans*. Nasiona zainfekowane grzybem *E. typhina* (E+) były rzadziej atakowane przez inne grzyby niż nasiona pozbawione *E. typhina* (E-) – jedynie u 9.09% nasion E(+) i u aż 75.45% nasion E(-) zanotowano obecność innych grzybów (Górzyńska et al. 2017). Byłam także częścią zespołu identyfikującego grzyby endofityczne w gatunkach roślin zagrożonych – *Carex secalina* oraz *Iris sibirica*. Grzyby te należą do czynników mających istotne znaczenie dla utrzymywania się populacji roślin i dla procesu kiełkowania. Obecność endofitów sprawdzono w tkankach liści dwóch populacji *C. secalina* oraz w nasionach *I. sibirica* zebranych z 3 rodzajów siedlisk. Łącznie zidentyfikowano 20 różnych taksonów grzybów endofitycznych – 12 taksonów u *C. secalina* i 10 u *I. sibirica*. Wśród nich, pojawiły się gatunki, które są powszechnymi patogenami roślin, ale nie zanotowano żadnych zewnętrznych oznak ich obecności w roślinach. Te tzw. „utajone patogeny”, przechodząc w stan pasożytniczy w późniejszym okresie życia rośliny, mogą być jedną z przyczyn redukcji liczebności populacji tych gatunków roślin. Wyniki zostały opublikowane (Górzyńska et al. 2019; Węgrzyn et al. 2020). Byłam również członkiem zespołu, który jako pierwszy odkrył obecność bakterii *Wolbachia* w larwach muchówek *Botanophila*. Bakterie te, znane z wywoływania zmian w reprodukcji stawonogów, mogą mieć wpływ nie tylko na samą muchówkę, ale również na grzyba *Epichloë*, poprzez ograniczanie konsumpcji infekcyjnych askospor przez larwy w przypadku przedwczesnej ich śmierci wywołanej infekcją bakteryjną (Pagel et al. 2019).

#### 4.5. Plany badawcze

W najbliższej perspektywie czasowej planuję kontynuować badania dotyczące poszukiwania bezpiecznych metod ograniczania rozprzestrzeniania się choroby „choke disease”, wykorzystując do tego również nanocząstki. Jednocześnie, rozpoczęłam badania mające na celu zbadanie, czy grzyby endofityczne zasiedlające rośliny mają wpływ na poziom ekspresji genów kodujących białka alergenne tych roślin.



#### 4.6. Literatura

- Alderman S.C., Rao S. (2008) Ascosporic Fertilization of *Epichloë typhina* in *Dactylis glomerata*. Plant Health Progress doi:10.1094/PHP-2008-0421-01-BR.
- Alderman S.C., Rao S., Martin, R.C. (2010) First report of *Dicyma pulvinata* on *Epichloë typhina* and its potential for *E. typhina* control. Plant Health Progress doi: 10.1094/PHP-2010-0216-01-RS.
- Alderman S.C., Rao S., Spinney R.L., Boren P.K., Cacka, J.F. (2008) Summary of choke control studies. Seed Production Research at Oregon State University W. C. Young III., eds. Oregon State Univ. Extension Service, USA.
- Bultman T.L., Leuchtman A. (2008) The biology of the *Epichloë–Botanophila* interaction: an intriguing association between fungi and insects. Fungal Biology Reviews 22:131-138.
- Cagař B., Macháč R. (2012) Effect of some factors on the incidence of choke (*Epichloë typhina*) in grass seed stands in the Czech Republic. Plant Protection Science 48:10-16.
- Czarnoleski M., Olejniczak P., G3rzyńska K., Kozłowski J., Lembicz M. (2012) Altered allocation to roots and shoots in the endophyte-infected seedlings of *Puccinellia distans* (Poaceae). Plant Biology 15:264-273.
- Eilenberg J., Michelsen V., Jensen A.B., Humber R.A. (2021) *Strongwellsea crypta* (Entomophthorales: Entomophthoraceae), a new species infecting *Botanophila fugax* (Diptera: Anthomyiidae). Journal of Invertebrate Pathology 186.107673.
- Elad Y. (2000) *Trichoderma harzianum* T39 preparation for biocontrol of plant diseases – control of *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Cladosporium fulvum*. Biocontrol Science and Technology 10(4):499-507.
- G3rzyńska K., Lembicz M., Olszanowski Z., Leuchtman A. (2010) An unusual *Botanophila–Epichloë* association in a population of orchardgrass (*Dactylis glomerata*) in Poland. Journal of Natural History 44: 2817-2824.
- G3rzyńska K., Lembicz M., Olszanowski Z., Leuchtman A. (2011) *Botanophila–Epichloë* interaction in a wild grass, *Puccinellia distans*, lacks dependence on the fly vector. Annals of the Entomological Society of America 104(4): 841-846.
- G3rzyńska K., Olszanowski Z., Leuchtman A., Lembicz M. (2014) Oviposition Preference of *Botanophila* Flies (Diptera: Anthomyiidae) Towards Stroma Size of *Epichloë* (Hypocreales: Clavicipitaceae) Hosts. Annals of the Entomological Society of America 107(2): 532-538.

- G3rzyńska K., Ryszka P., Anielska T., Turnau K., Lembicz M. (2017) Effect of *Epichloë typhina* fungal endophyte on the diversity and incidence of other fungi in *Puccinellia distans* wild grass seeds. *Flora* 228:60-64.
- G3rzyńska K., Węgrzyn E., Sandecki R., Lembicz M. (2019) Endophytic fungi and latent pathogens in the sedge *Carex secalina* (Cyperaceae), a critically endangered species in Europe. *Plant Protection Science* 55:102-108.
- Jeffries P., Young T.W.K. (1994) *Interfungal Parasitic Relationship*. CAB International, Wallingford.
- Kirshner R. (2006) New records of *Clonostachys epichloë*, a mycoparasitic fungus on the grass-parasitic ascomycete *Epichloë typhina* for Europe. *Feddes Repertorium* 117:307-311.
- Lembicz M., G3rzyńska K., Leuchtman A. (2010) Choke disease, caused by *Epichloë bromicola*, in the grass *Agropyron repens* in Poland. *Plant Disease* 94(1): 1372.
- Lembicz M., G3rzyńska K., Olejniczak P., Leuchtman A. (2011) Geographical distribution and effects of choke disease caused by *Epichloë typhina* in populations of the grass *Puccinellia distans* in Poland. *Sydowia* 63(1): 35-48.
- Lembicz M., G3rzyńska K., Olszanowski Z., Michelsen V., Leuchtman A. (2013) The occurrence and preference of *Botanophila* flies for particular species of *Epichloë* fungi infecting wild grasses. *European Journal of Entomology* 110(1): 129-134.
- Pagel L., Bultman T., G3rzyńska K., Lembicz M., Leuchtman A., Sangliana A., Richards N. (2019) *Botanophila* flies, vectors of *Epichloë* fungal spores, are infected by *Wolbachia*. *Mycology: An International Journal on Fungal Biology* 10:1-5.
- Pfender W.F., Alderman S.C. (2003) Evaluation of postharvest burning and fungicides to reduce the polyetic rate of increase of choke disease in orchardgrass seed production. *Plant Disease* 87:375-379.
- Pfender W.F., Alderman S.C. (2006) Regional development of orchardgrass choke and estimation of seed yield loss. *Plant Disease* 90:240-244.
- Rao S., Baumann D. (2004) The interaction of *Botanophila* fly species with an exotic *Epichloë* fungus in a cultivated grass: fungivore or mutualist? *Entomologia Experimentalis et Applicata* 112:99-105.
- Raynal G. (1991) Libération des ascospores d'*Epichloe typhina*, agent de la quenouille du dactyle. Conséquences pour l'épidémiologie et la lutte. *Fourrages* 127:345-358.
- Schroers H.J. (2001) A monograph of *Bionectria* (Ascomycota, Hypocreales, Bionectriaceae) and its *Clonostachys* anamorphs. *Studies in Mycology* 46:1-214.

- Steinebrunner F., Schiestl F.P., Leuchtman A. (2008) Ecological role of volatiles produced by *Epichloë*: differences in antifungal toxicity. *FEMS Microbiology Ecology* 64(2):307-16.
- Sun Z.B., Li S.D., Ren Q., Xu, J.L., Lu X., Sun M.H. (2020) Biology and applications of *Clonostachys rosea*. *Journal of Applied Microbiology* 129:486-495.
- Tadych M., Bergen M.S., White J.F. Jr. (2014) *Epichloë* spp. associated with grasses: new insights on life cycles, dissemination and evolution. *Mycologia*. 106(2):181-201.
- Węgrzyn E., Dominiak-Świgoń M., G3rzyńska K., Chmiel J., Świtalski K., Lembicz M. (2020) Fungal microbiota in the seeds of the clonal plant *Iris sibirica* – a threatened species in Europe. *Sydowia* 72:107-114.
- Yang Z., Wu Q., Fan J., Huang J., Wu Z., Lin J., Bin S., Shu B. (2021) Effects of the entomopathogenic fungus *Clonostachys rosea* on mortality rates and gene expression profiles in *Diaphorina citri* adults. *Journal of Invertebrate Pathology* 179:107539.

## **5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni lub instytucji naukowej**

W trakcie studiów doktoranckich nawiązałam współpracę z dr hab. Pawłem Olejniczakiem, prof. IOP PAN i w ramach programu „Lapland Atmosphere-Biosphere Facility” oraz projektu, którego był kierownikiem – „Effects of fungal endophytes on reproductive allocation in red fescue (*Festuca rubra*) – comparison across genotypes and habitats” (LAPBIAT; Proposal/Contract no.: 025969) odbyłam dwa staże (22.05-14.06.2007 r. oraz 7-20.07.2008 r.) w Kevo Subarctic Research Institute of the University of Turku (Finlandia). Tam, oprócz wykonywania zadań w projekcie, zapoznałam się z technikami detekcji grzybów endofitycznych w trawach oraz ich identyfikacji. Z dr hab. Pawłem Olejniczakiem, prof. IOP PAN, współpracowałam również później, w ramach grantu prof. dr hab. M. Lembicz (grant MNiSW nr NN303472138 „Trawy pastwisk i upraw polowych zasiedlone przez grzyby endofityczne: ekologiczne i chemiczne efekty interakcji”) oraz w ramach swojej ostatniej publikacji (G3rzyńska et al. 2023).

Oprócz współpracy krajowej, współpracowałam również z naukowcami z zagranicy. Wieloletnia współpraca z prof. Adrianem Leuchtmanem (Plant Ecological Genetics, Institute of Integrative Biology (IBZ) ETH Zürich, Switzerland), mykologiem, przyniosła efekty w postaci 7 wspólnych publikacji. Współpracowałam również z dr Vernerem Michelsenem (Natural History Museum, Copenhagen), entomologiem, specjalistą w zakresie muchówek z rodzaju *Botanophila* i ich identyfikacji (która możliwa jest jedynie na podstawie budowy

narządów rozrodczych męskich lub technikami molekularnymi), czego efektem była publikacja dotycząca preferencji gatunkowej muchówek w stosunku do gatunków grzyba (Lembicz et al. 2013). Współpraca z prof. Tomem Bultmanem (Hope College, Holland, USA), który jako pierwszy opisał dokładnie interakcje pomiędzy muchówkami a grzybami *Epichloë* oraz jego pobyt na Wydziale Biologii UAM w 2018 roku, zaowocowały wspólną publikacją o obecności bakterii *Wolbachia* w larwach muchówek *Botanophila* (Pagel et al. 2019).

## **6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę**

Zajęcia dydaktyczne ze studentami, które prowadzę od pierwszego roku studiów doktoranckich, obejmują wszystkie możliwe (oprócz wykładów) formy – laboratoryjne, konwersatoryjne oraz terenowe. Prowadziłam je lub prowadzę na wszystkich stopniach studiów (licencjackie, magisterskie, doktoranckie) a tematyka tych zajęć obejmuje taksonomię oraz ekologię roślin i grzybów. Są wśród nich: Filogeneza i systematyka roślin i grzybów, Różnorodność świata roślin i grzybów, Biotaksonomia, Biologia interakcji, Bioróżnorodność, Szata roślinna Wielkopolski, Diagnostyka kondycji roślin w warunkach stresu oraz Rośliny i grzyby lecznicze i trujące. Prowadziłam również zajęcia w ramach pracowni licencjackiej oraz magisterskiej, corocznie wypracowując pełne pensum godzinowe przewidziane na moim stanowisku. Część z wymienionych przedmiotów koordynowałam (Filogeneza i systematyka roślin i grzybów oraz Diagnostyka kondycji roślin w warunkach stresu), brałam udział również w opracowywaniu sylabusów niektórych z nich (np. Diagnostyka kondycji roślin w warunkach stresu oraz Rośliny i grzyby lecznicze i trujące). Różnorodność tych zajęć oraz samodzielne opracowanie do nich materiałów i ich uaktualnianie daje mi możliwość stałego rozwoju w tym obszarze.

Byłam promotorką 3 prac licencjackich oraz 2 magisterskich oraz recenzentką 3 prac dyplomowych (1 licencjackiej i 2 magisterskich). Byłam także opiekunką stażów studenckich oraz opiekunką studentów I roku. Za swój sukces uważam uzyskanie przez jedną z moich magistrantek stypendium Niemieckiej Fundacji Federalnej Środowisko (DBU) dla najlepszych absolwentów i doktorantów wyższych uczelni w dziedzinie ochrony środowiska, dzięki wspólnie napisanemu przez nas projektowi „Relationship between mycorrhizal fungi and possibility of *Epichloë typhina* sexual stage emergence under varying salinity conditions”, który potem studentka realizowała na Wolnym Uniwersytecie w Berlinie.

Jednocześnie staram się w sposób ciągły podnosić swoje kompetencje dydaktyczne poprzez udział w kursach dydaktycznych. Były to m. in. kurs „Jak angażować siebie i studentów na zajęciach akademickich?”, warsztat „FEEDBACK – informacja zwrotna, która »karmi«” oraz warsztat „Infografiki bez tajemnic – wizualizacja w procesie nauczania”. Wiele wyniosłam z Warsztatów Technik Prezentacji Naukowych „OAK”, będąc zarówno ich uczestniczką jak i organizatorką. Oprócz tego brałam również udział w kursach rozwijających mój warsztat badawczy, a zdobytą wiedzę wykorzystuję na zajęciach ze studentami. Ukończyłam dwa kursy organizowane przez firmę Statsoft („Statistica – kurs podstawowy” oraz „Analiza wariancji), dwutygodniowy kurs „Fungal Biodiversity”, organizowany przez CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre (Holandia) oraz kurs „Advanced Microscopy Techniques for Plant-Microbe Interaction Analysis” prowadzony przez Austrian Institute of Technology. Brałam również udział w kursach: „Spektrometria mas w badaniach mikrobiologicznych, mikologicznych i biotechnologicznych”, organizowanym na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego oraz szkoleniu „Pomiar stężenia alergenów w powietrzu z zastosowaniem metody ELISA” w Pracowni Aeropalinologii, Uniwersytetu im. A. Mickiewicza.

Angażowałam się również w liczne przedsięwzięcia popularyzatorskie, m. in. warsztaty „Ukryty świat grzybów” w ramach Poznańskiego Festiwalu Nauki i Sztuki czy też warsztaty „Niewidzialne dla oczu – grzyby endofityczne” podczas Nocy Biologów, których byłam organizatorką oraz prowadzącą. Parokrotnie wygłosiłam wykłady popularyzatorskie w ramach Festiwalu Nauki i Sztuki oraz Fascination of Plants Day (np. „Grzybowi zabójcy owadów” i „Niebezpieczne związki czyli o trudnych relacjach grzyb-roślina-muchówka”) oraz w ramach spotkania Oddziału Poznańskiego PTB („»Romans« trzech królestw czyli interakcje między trawami, grzybami endofitycznymi z rodzaju *Epicloë* i muchówkami *Botanophila* spp.”). Udzieliłam także kilku wywiadów („Grzyby entomopatogenne – zabójcy owadów” dla radia Afera oraz „Tajemnicze życie grzybów” i „Kobiety na Pomoście” dla Życia Uniwersyteckiego) oraz kilkakrotnie prowadziłam warsztaty w grupach przedszkolnych w Zespole Szkolno-Przedszkolnym w Mrowinie na temat bakterii i grzybów.

Od 2016 roku jestem członkiem Polskiego Towarzystwa Mykologicznego, w ramach którego razem z prof. dr hab. Marlena Lembicz w 2017 r. powołałyśmy sekcję „Grzyby w interakcjach”. Obecnie pełnię funkcję zastępcy przewodniczącej tej sekcji.

## 7. Inne informacje dotyczące kariery zawodowej

Dzięki funduszom zdobytym w ramach dwóch kierowanych przeze mnie grantów (Pomost FNP oraz Sonata NCN), możliwy był zakup nowego sprzętu do utworzonego w obrębie mojego macierzystego zakładu (Botaniki Systematycznej i Środowiskowej) Laboratorium Biotycznych Interakcji, którego jestem współinicjatorką i współtwórczynią. Laboratorium zostało wyposażone w komorę fitotronową do hodowli roślin, cieplarkę, komorę laminarną, autoklaw oraz mikroskopy. Dzięki temu sprzętowi mogliśmy poszerzyć swoje dotychczasowe badania i stał się pomocny w realizacji nie tylko naszych badań naukowych, ale również licznych prac dyplomowych.

W 2010 r. otrzymałam stypendium w ramach projektu Wojewódzkiego Urzędu Pracy w Poznaniu „Wsparcie stypendialne dla doktorantów na kierunkach uznanych za strategiczne z punktu widzenia rozwoju Wielkopolski” realizowane w zakresie Poddziałania 8.2.2 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki.

Wciąż staram się rozwijać w pisaniu projektów – brałam udział w szkoleniach w pisaniu grantów europejskich organizowanych przez Regionalny Punkt Kontaktowy w Poznaniu (2008 i 2009 rok). Oprócz tego, uczestniczyłam w kilku sympozjach, m. in zorganizowanym przez Klub Stypendystów Fundacji na rzecz Nauki Polskiej sympozjum „Życie, wszechświat i cała reszta: o nauce i karierze naukowej” (Warszawa, 29-30.11.2013 r.) oraz w sympozjum „MilestoneHero – narzędzia IT między nauką a biznesem”, którego organizatorem był Fundusz Zaawansowanych Technologii INVESTIN (Poznań, 5.06.2013 r.).

.....

(podpis wnioskodawcy)