

Mgr inż. Arnika Przybylska

**„Mechanizmy obronne kukurydzy zwyczajnej (*Zea mays* L.) zainfekowanej
nicieniem *Meloidogyne arenaria*”**

STRESZCZENIE

Guzak arachidowy (*Meloidogyne arenaria*) jest jednym z ponad 100 gatunków należących do nicieni z rodzaju *Meloidogyne* spp. Guzaki są szeroko rozpowszechnione w większości stref klimatycznych i charakteryzują się bardzo dużym zakresem roślin żywicielskich, zarówno jedno-, jak i dwuliściennych. Jednym z gospodarzy jednoliściennych dla tego gatunku jest kukurydza (*Zea mays* L.), która stanowi podstawę wyżywienia ludzi i zwierząt na całym świecie. Pomimo, iż wiele mechanizmów obronnych roślin w odpowiedzi na infekcję nicieniami należącymi do tego rodzaju zostało do tej pory opisanych, nie została jeszcze scharakteryzowana odpowiedź kukurydzy na atak guzaków. Hipoteza rozprawy doktorskiej zakłada, że podczas reakcji rośliny na infekcję nicieniem dochodzi do aktywacji szeregu mechanizmów obronnych, w tym zmian w poziomie ekspresji genów kodujących białka związane z reakcją odpornościową oraz modyfikacjami ściany komórkowej, a także zmian w akumulacji białek roślinnych związanych z odpowiedzią na stres i sygnalizacją międzykomórkową. Nicień z kolei wydziela białka efektorowe oddziałujące z białkami roślinnymi, wpływając w ten sposób na procesy metaboliczne rośliny i zakłócając jej reakcję obronną. Celem pracy było badanie mechanizmów obronnych indukowanych w kukurydzy w wyniku infekcji nicieniem *M. arenaria*, a także wskazanie potencjalnego białka efektorowego tego guzaka. Pierwszym etapem pracy było przeprowadzenie analizy ekspresji genów kodujących białka związane z odpowiedzią na stres rośliny w próbach pochodzących z korzeni, a także z modyfikacjami ściany komórkowej oraz wybrane czynniki transkrypcyjne w próbach pochodzących z korzeni i liści kukurydzy odmian wrażliwych i tolerancyjnych na infekcję nicieniem *M. arenaria*. W wyniku tych analiz wykazano istotną rolę białek związanych z patogenezą (PR - ang. *pathogenesis related*): PR-3, PR-4 i PR-5, które są związane zarówno ze szlakiem sygnałowym kwasu jasmonowego, jak i kwasu salicylowego. W trakcie analiz ekspresji genów kodujących czynniki transkrypcyjne i białka związane z modyfikacjami ściany komórkowej wskazano, że białko bogate w glicynę wiążące RNA bierze udział w reakcji obronnej, gdyż poziom kodującego go genu istotnie różnił się pomiędzy odmianami wrażliwymi

i tolerancyjnymi. Kolejnym etapem badań było przeprowadzenie analiz bioinformatycznych w celu wskazania potencjalnego białka efektorowego dla guzaka arachidowego, następnie zbadano poziom ekspresji genu kodującego to białko w różnych stadiach rozwojowych nicienia. Przeszukano także bibliotekę cDNA kukurydzy w dwuhybrydowym systemie drożdżowym, aby wskazać białka kukurydzy oddziałujące z potencjalnym białkiem efektorowym, a następnie potwierdzono te oddziaływania za pomocą ko-immunoprecypitacji oraz przeanalizowano lokalizację komórkową wskazanych białek w obecności białka zielonej fluorescencji (GFP – ang. *green fluorescent protein*). W wyniku powyższych analiz wskazano potencjalne białko efektorowe MaMsp4, o najwyższym poziomie ekspresji kodującego je genu w stadium inwazyjnym nicienia J2, co jest cechą charakterystyczną dla białek efektorowych. Wskazano także białka kukurydzy oddziałujące z białkiem MaMsp4, pełniące funkcję zarówno jako białka obronne jak i modyfikujące ścianę komórkową, zlokalizowane w cytoplazmie i/lub w apoplacie: beta-galaktozydazę 11, dekarboksylazę S-adenozylometioniny 2, pektynesterazę i cytydylotransferazę fosfoetanoloaminy. Następnie, aby poszerzyć analizę zmian w ekspresji testowaną na poziomie transkryptów, scharakteryzowano zmiany w proteomie korzeni kukurydzy, zachodzące w wyniku infekcji guzakiem arachidowym, wykorzystując metodę ilościową bez znaczników. Opisano różnice w poziomie akumulacji białek związanych z modyfikacjami ściany komórkowej, odpowiedzią na warunki stresowe, a także procesy i ścieżki związane z biosyntezą i metabolizmem fenylopropanoidów, ścieżki związane z przekazywaniem sygnałów oraz z syntezą S-adenozylometioniny. Wyniki uzyskane podczas pracy mogą przyczynić się do opracowania strategii zwalczania guzaków w uprawach roślin jednoliściennych.

Poznań, 02.10.2023

A. Przybylska