

## Zadanie 96

### Badania cytologicznych i biochemicznych mechanizmów odporności roślin w patosystemach pomidor-*Phytophthora infestans* oraz ogórek-*Pseudoperonospora cubensis*

W roku 2017 badania prowadzono w ramach trzech tematów badawczych:

#### Temat badawczy 1

##### Oznaczenia wybranych parametrów fizjologiczno – biochemicznych w reakcji roślin na porażenie patogenami w patosystemach: pomidor-*P. infestans* oraz ogórek-*P. cubensis*.

Celem badań były: (i) analizy intensywności generowania reaktywnych form tlenu w roślinach na podstawie pomiaru poziomu rodników nadtlenkowego i hydroksylowego, (ii) ocena zmian aktywności wybranych enzymów roślinnego układu antyoksydacyjnego oraz obronnego (SOD, PPO, PGA, POX, CAT), (iii) oznaczenie poziomu substancji chroniących przed atakiem patogenów (ligniny, fenole, kaloza). Dynamikę zmian ww. parametrów określano przed oraz w trakcie infekcji patogenami (0 - 96 hpi). Badaniami objęto 8 linii pomidora (*S. lycopersicum*, *S. pimpinellifolium*, *S. habrochaites*, *S. pennelli*) oraz 5 linii ogórka różniących się poziomem odporności/podatności na przedmiotowe patogeny. Ze względu na odporność uzależnioną od wieku rośliny, linie pomidora inokulowano w dwóch fazach rozwojowych: rośliny 4- i 8-tygodniowe.

W obu badanych patosystemach stwierdzono różnice w aktywności peroksydazy gwajakolowej, oksydazy polifenolowej, dysmutazy ponadtlenkowej oraz katalazy w zależności od poziomu odporności badanych linii. Generalnie linie odporne wykazywały znaczny wzrost aktywności ww enzymów już w 8 godzinie po inokulacji (hpi). Natomiast w przypadku linii podatnych wzrost aktywności enzymów odnotowywano dopiero po 36 hpi. W przypadku patosystemu pomidor- *P. infestans* rośliny 4- tygodniowe wykazywały wyższą aktywność enzymatyczną niż rośliny 8- tygodniowe. W obu patosystemach wykazano również tendencję wzrostową w odniesieniu do zawartości wolnych fenoli oraz lignin, przy czym tendencja ta była bardziej wyraźna u linii odpornych. Wszystkie linie ogórka cechował spadek poziomu kalozy postępujący wraz z rozwojem choroby. Natomiast w liniach pomidora w fazie 4 tygodni obserwowano akumulację kalozy w okresie do 24 hpi, po czym jej poziom się obniżał. W 8- tygodniowych liniach pomidora nie zaobserwowano żadnego trendu w zmianach koncentracji tej substancji ochronnej.

#### Temat badawczy 2

##### Analiza ekspresji (qRT-PCR) wybranych genów uczestniczących w mechanizmach obronnych.

W ramach niniejszego tematu badania koncentrowały się na określeniu zmian w poziomie ekspresji transkryptów genów ogórka uczestniczących w mechanizmach obronnych: amoniakolizy fenyloalaninowej (*PAL*), lipoksygenazy (*LOX*), syntazy kalozy, genów będących przedstawicielami rodzin PR (*PR1b*, *PR2a*, *PR2b*, *PR3a*, *PR3b*; *PR5*; *PR7*, *MT2BI-1*), genów uczestniczących w szlaków biosyntezy Me-JA (*LOX2*, *AOS*, *AOC2*, *OPR3*, *PDF1.2*) i SA (*pAD4*, *cpr1*), oraz genu kodującego wakuolarną endoproteazę (*VPE*). Zmiany oceniano przed oraz po inokulacji *P. cubensis* (0 - 72 hpi). W przypadku linii podatnych ekspresja utrzymywała się na stosunkowo niskim poziomie w pierwszej dobie trwania eksperymentu. Istotny wzrost poziomu transkryptów obserwowano dopiero od 36 hpi. Natomiast linie odporne reagowały szybciej, o czym świadczy wyraźny wzrost ekspresji już w ósmej godzinie po inokulacji. Inny wzór ekspresji stwierdzono natomiast w przypadku genu kodującego wakuolarną endoproteazę (*VPE1*) oraz *MT2BI-1*; dla obu badanych genów

odnotowano wzrost ekspresji od 8 hpi, niezależnie od poziomu odporności/podatnych badanych linii.

### *Temat badawczy 3*

#### Analiza udziału wybranych regulatorów wzrostu u ogórka i pomidora w procesie patogenezy i generowaniu reakcji odpornościowych.

Celem wyjaśnienia roli etylenu w regulacji reakcji odpornościowych w przedmiotowych patosystemach, optymalizowano metody pomiarów: tempa biosyntezy tego regulatora wzrostu w zdrowej i zainfekowanej tkance oraz wpływu na przebieg infekcji inhibitorów jego biosyntezy – aminoetoksywinyloglicyny (AVG) oraz tiosiarczanu srebra (STS). W trakcie analiz ustalono stężenia inhibitorów syntezy etylenu dla poszczególnych patosystemów. Została również opracowana metodyka badań wpływu egzogennych fitohormonów: jasmonianu metylu i kwasu salicylowego na przebieg infekcji i indukcję mechanizmów obronnych.