

Zadanie 99. Badanie molekularnego mechanizmu odporności na kiłę kapusty (*Plasmodiophora brassicae*) u roślin z rodzaju *Brassica*.

Celem badań prowadzonych w roku 2018 w ramach trzech tematów badawczych były:

- makro- i mikroskopowa analiza rozwoju infekcji u kapusty głowiastej, kapusty pekińskiej, jarmużu, brukwi, rzepy i rzepaku różniących się poziomem i typem odporności na kiłę kapusty infekowanych *P. brassicae* Pb3;
- testy molekularne na obecność zarodników *P. brassicae* Pb3 w korzeniach roślin i w glebie;
- analiza ekspresji genów zaangażowanych w reakcje odpornościowe roślin podczas infekcji u roślin infekowanych *P. brassicae* Pb3;
- analiza transkryptomów roślin porażonych *P. brassicae* Pb2 siedmiu genotypów roślin kapustowatych polegająca na re-amplifikacji wybranych różnicujących produktów cDNA-AFLP, ich sekwencjonowaniu i wstępnej analizie homologii (kontynuacja badań rozpoczętych w roku 2016).

Temat badawczy 1. Analizy makro- i mikroskopowe rozwoju choroby u badanych genotypów podczas infekcji różnymi patotypami patogena; testy molekularne na obecność zarodników *P. brassicae* w korzeniach roślin i w glebie podczas infekcji.

Zgodnie planem w roku 2018 wykonano mikroskopową i makroskopową ocenę nasilenia infekcji i symptomów choroby oraz określenie ilości patogena w badanych roślinach i w podłożu przy pomocy testów molekularnych (real-time PCR). Temat został zrealizowany w 100%.

Materiał roślinny do badań stanowiło siedem genotypów roślin z rodziny *Brassicaceae*: 1) *B. rapa* var. *capitata* ECD03 (rzepa); 2) *B. oleracea* var. *capitata* cv. 'Binsachsner' (kapusta głowiasta); 3) *B. oleracea* var. *acephala* subvar. *lacinata* cv. 'Verheul' (jarmuż); 4) *B. oleracea* var. *capitata* cv. 'Kilaton F1' (kapusta głowiasta); 5) *B. napus* var. *rapifera* cv. 'Wilhelmsburger' (brukiew); 6) *B. rapa* subsp. *pekinensis* cv. 'Bilko F1' (kapusta pekińska); 7) *B. napus* var. *napus* cv. 'Mendel F1' (rzepak). Inokulum zawierające 10^8 /ml zarodników *P. brassicae* Pb3 uzyskano poprzez homogenizację korzeni kapusty głowiastej porażonej przez patogena.

Obserwacje makroskopowe rozwoju choroby przeprowadzono na losowo wybranych roślinach. Podczas obserwacji makroskopowych roślin infekowanych *P. brassicae* Pb9 w 10. dniu od wysiania nasion nie obserwowano symptomów choroby na korzeniach. Pierwsze symptomy choroby pojawiły się na korzeniach kapusty pekińskiej 'Bilko F1' w 20 dniu od wysiania nasion (średnie porażenie (ŚP) wyniosło 0,2). Po 35 dniach makroskopowe objawy choroby pojawiły się u wszystkich badanych genotypów. W przypadku rzepy ECD03 odnotowano porażenie tylko jednej rośliny (ŚP 0,03), a u brukwi 'Wilhelmsburger' siedmiu roślin we wszystkich powtórzeniach (ŚP 0,3). Największe nasilenie objawów chorobowych w postaci wyrosła na korzeniach (ŚP 2,0) zaobserwowano w 35 dniu od wysiania nasion na korzeniach kapusty głowiastej 'Binsachsner' oraz 'Kilaton F1' oraz kapusty pekińskiej 'Bilko F1'.

Ilościowe analizy metodą real-time PCR z zastosowaniem wyznakowanej fluorescencyjnie sondy molekularnej wykazały wysokie stężenie patogena zarówno w korzeniach roślin, jak i w inokulowanym podłożu. Średnia ilość patogena w podłożu inokulowanym we wszystkich kuwetach przed siewem roślin wynosiła około 10^7 spor w 1 g podłoża. Po 35 dniach wzrostu roślin w zainfekowanym podłożu ilość zarodników zmalała we wszystkich próbach podłoża. Największy spadek ilości zarodników zaobserwowano w kuwetach, w których rosły rośliny rzepaku 'Mendel F1' i jarmużu 'Verheul', a najmniejszy – w kuwetach, w których rosły rośliny kapusty głowiastej 'Kilaton F1'.

Wyniki analizy real-time PCR w korzeniach roślin, wykonanych po upływie 10, 20 i 35 dniach od wysiania nasion wykazały podobne zależności dla wszystkich badanych genotypów. Ilość spor w korzeniach pobieranych po 10 dniach od wysiania do infekowanego podłoża wynosiła od $0,9 \times 10^4$ do $0,9 \times 10^6$. Po 20 dniach od wysiania nasion ilość spor w korzeniach wzrosła we wszystkich kombinacjach, z wyjątkiem brukwi 'Wilhelmsburger'. Po 35 dniach wzrostu roślin w infekowanym podłożu nastąpił znaczny wzrost ilości spor w korzeniach genotypów kapusty głowiastej 'Binsachsner' oraz 'Kilaton F1', jarmużu 'Verheul', kapusty pekińskiej 'Bilko F1' oraz rzepaku 'Mendel F1'. W przypadku brukwi 'Wilhelmsburger' oraz rzepy ECD03 ilość spor w korzeniach uległa zmniejszeniu w stosunku do początkowej ilości.

Obserwacje mikroskopowe rozpoczynano w 4 dniu od wysiewu nasion, a dla odmiany 'Wilhelmsburger' w 12 dniu od wysiania nasion. U większości genotypów najwięcej dojrzałych plazmodiów pojawiało się około 14-15. dnia od wysiewu. Największą maksymalną liczbę plazmodiów we włośnikach zaobserwowano u roślin jarmużu odmiany 'Verheul' (38 plazmodiów na korzeń, średnio 14,6 plazmodiów na korzeń). Podobnie wysoką, maksymalną i średnią liczbę plazmodiów na korzeń obserwowano u roślin kapusty pekińskiej 'Bilko F1' (39 plazmodiów na korzeń, średnio 12,6 plazmodiów na korzeń). Najmniejszą liczbę plazmodiów obserwowano u brukwi odmiany 'Wilhelmsburger' (średnio 2,3 plazmodia na korzeń, a maksymalnie jedynie 5). U tego genotypu najpóźniej obserwowano pojawienie się plazmodiów, bo w 12 dniu od wysiania nasion. Najwcześniej, bo już w 4 dniu od wysiania nasion, plazmodia we włośnikach obserwowano u roślin jarmużu odmiany 'Verheul'.

W roku 2018 wykonano także analizy intensywności generowania reaktywnych form tlenu w korzeniach badanych genotypów roślin kapustowatych na podstawie oceny poziomu fluorescencji. Pomimo niskiego poziomu fluorescencji w komórkach korzeni stwierdzono różnice w intensywności generowania ROS pomiędzy badanymi genotypami, a także terminem poboru prób. W 10 dniu od wysiania nasion, stosunkowo wysoki poziom fluorescencji obserwowano u jarmużu odmiany 'Verheul'. Stosunkowo wysoki poziom fluorescencji zaobserwowano podczas analiz korzeni pobranych w 20 dniu od wysiania nasion u genotypów jarmużu 'Verheul', kapusty głowiastej 'Binsachsner' oraz brukwi 'Wilhelmsburger'. Niski poziom fluorescencji, a co za tym idzie – nagromadzenia ROS w komórkach obserwowano u pozostałych genotypów. Najniższy poziom fluorescencji obserwowano u korzeni pobranych w 35 dniu od wysiania nasion, z wyjątkiem kapusty głowiastej 'Kilaton F1'.

Temat badawczy 2. Analiza poziomu ekspresji genów zaangażowanych w reakcje odpornościowe podczas infekcji badanych genotypów różnymi patotypami patogena.

Celem tematu badawczego 2. była analiza poziomu ekspresji genów zaangażowanych w reakcje odpornościowe podczas infekcji badanych genotypów różnymi patotypami patogena (w roku 2018 – patotypu Pb3). W ramach tematu zaprojektowano startery oraz optymalizowano warunki reakcji real-time PCR dla czterech genów zaangażowanych w reakcje odpornościowe kodujących białko G (rozpoznanie patogena), białko NPR1 (aktywacja genów PR), oksydazę NADPH (białko RbohG) oraz dysmutazę SOD (metabolizm ROS). Wszystkie analizy real-time PCR prowadzono przy użyciu odczynników wykorzystujących w pomiarze interkalujący barwnik SybrGreen. Poziom ekspresji poszczególnych genów wyrażony został jako względna ilość mRNA, normalizowana w stosunku do genu referencyjnego kodującego podjednostkę 18S rRNA. Temat został zrealizowany w 100%.

U wszystkich badanych genotypów stwierdzono wzrost ekspresji wybranych genów zaangażowanych w reakcje odpornościowe u roślin zainfekowanych *P. brassicae*, aczkolwiek efekt był zależny od genotypu rośliny. Najwyższy poziom względnej ekspresji badanych genów

odpornościowych, podobnie jak w latach poprzednich obserwowano u trzech badanych genotypów: brukwi odmiany 'Wilhelmsburger', jarmużu odmiany 'Verheul' oraz kapusty głowiastej 'Kilaton F₁'. Najniższy poziom względnej ekspresji badanych genów odpornościowych obserwowano u rzepy ECD03, kapusty głowiastej 'Binsachsner', kapusty pekińskiej 'Bilko F₁' oraz rzepaku odmiany 'Mendel F₁'. Względna ekspresja genu kodującego dysmutazę ponadtlenkową (SOD) u jarmużu 'Verheul', kapusty głowiastej 'Kilaton F₁' i brukwi 'Wilhelmsburger' była kilka do kilkunastu razy wyższa niż u pozostałych genotypów, jednak u żadnego z tych genotypów nie stwierdzono wzrostu ekspresji tego genu w czasie. Spadek ekspresji tego genu obserwowano jedynie u brukwi 'Wilhelmsburger'. W przypadku genu kodującego białko G, spadek względnej ekspresji nastąpił u kapusty głowiastej 'Kilaton F₁'. W przypadku genu kodującego białko RbohG (oksydazę NADPH) wzrost poziomu ekspresji w czasie prowadzenia doświadczenia obserwowano u jarmużu 'Verheul' oraz kapusty głowiastej 'Kilaton F₁'. Tylko u jednego genotypu – brukwi odmiany 'Wilhelmsburger' infekowanego patotypem Pb3, widać wyraźny wzrost ekspresji genu kodującego białko NPR1 w czasie infekcji. Także u kapusty głowiastej 'Binsachsner' obserwowano wzrost ekspresji tego genu, jednak ekspresja ta była na bardzo niskim poziomie. W przypadku rzepy ECD03 nie obserwowano zmian w ekspresji genu kodującego białko NPR1.

Temat badawczy 3. Analiza transkryptomów porażonych i zdrowych roślin 7 genotypów z rodzaju *Brassica* metodą cDNA-AFLP.

Zgodnie z planem, w ramach tematu badawczego 3. kontynuowano analizę cDNA-AFLP u siedmiu genotypów z rodzaju *Brassica* z wykorzystaniem kolejnych 86 par primerów różnicujących. Temat został zrealizowany w 100%.

Do analiz pobrano korzenie roślin rosnących w podłożu inokulowanym *P. brassicae* oraz roślin kontrolnych. Próbkę do analiz pobrano trzykrotnie: po 10, 20 i 35 dniach od inokulacji. Z testowanych 86 par starterów AFLP, 74 pozwoliły na amplifikowanie fragmentów cDNA u badanych genotypów i analizę markerów AFLP. Analizie poddano ponad 4000 produktów amplifikacji – fragmentów cDNA – które ulegały zróżnicowanej ekspresji u badanych genotypów – roślin zdrowych oraz infekowanych. Wstępna analiza wykazała, że u roślin infekowanych *P. brassicae* 41,07% produktów cDNA-AFLP ulegało nadekspresji, a 38,15% było wyciszonych, w porównaniu do roślin kontrolnych. Największą ogólną liczbę amplifikowanych fragmentów cDNA-AFLP otrzymano dla dwóch badanych genotypów: kapusty pekińskiej 'Bilko F₁' oraz brukwi odmiany 'Wilhelmsburger'. Największy procent produktów amplifikacji AFLP specyficznych jedynie dla roślin infekowanych *P. brassicae* obserwowano u kapusty głowiastej 'Kilaton F₁' oraz jarmużu odmiany 'Verheul'. Największy procent genów ulegających wyciszeniu pod wpływem infekcji patogenem obserwowano u brukwi odmiany 'Wilhelmsburger'.

W roku 2018 reamplifikowano oraz sekwencjonowano kolejnych 50 produktów AFLP wykazujących zróżnicowaną ekspresję u roślin zainfekowanych i zdrowych. Spośród nich, 32 uległy nadekspresji, a 18 wyciszeniu u roślin infekowanych. Analiza BLAST wykazała, że spośród 32 genów ulegających nadekspresji u roślin infekowanych, 24 geny były homologiczne do genów kodujących znane białka roślinne. Białka te biorą udział w regulacji ekspresji genów (transpozaza, metylotransferaza ATX5, czynnik inicjacji transkrypcji eIF2 oraz eIF3, białko typu zinc finger, białko PPR); transporcie komórkowym (białko NRT1/PTR); budowie cytoszkieletu (formina, białko związane z mikrotubulami); transdukcji sygnału (kinazy) czy innych procesach komórkowych (m.in.: syntaza ATP). Dla 7 z nich wykazano homologię do znanych białek zaangażowanych w reakcje odpornościowe u roślin: kinazę receptorową At5g24010, syntazę germakrenową, polimerazę RNA II, hydrolazę ABH, białko wiążące rybosomy, kinazę TMK1 oraz kinazę serynowo-treoninową cdc7. Dla 5 genów analiza homologii wykazała podobieństwo do genów kodujących białka o nieznannej funkcji,

a dla jednego z trzech genów (pochodzących prawdopodobnie od patogena) wykazano homologię do białka odpowiedzialnego za horyzontalny transfer genów. Dla 3 genów z tej grupy analiza BLAST nie wykazała homologii do żadnego z genów/sekwencji zgromadzonych w bazie NCBI.

Spośród 18 genów, które ulegały wyciszeniu u roślin infekowanych, dla 9 stwierdzono homologię do genów zgromadzonych w bazie NCBI. Kodują one białka zaangażowane w regulację ekspresji genów (syntaza asparaginy, białko WUSCHEL), transport komórkowy (białko opłaszczające), transdukcję sygnału (białko TSS), regulację cyklu komórkowego (cyklina S13) i biorące udział w innych procesach komórkowych (galaktokinaza, syntaza ATP, białko FRIGIDA-like, endopeptydaza prolylu). Dla 4 genów analiza homologii wykazała podobieństwo do genów kodujących białka o nieznannej funkcji. Dla 5 genów z tej grupy analiza BLAST nie wykazała homologii do żadnego z genów/sekwencji zgromadzonych w bazie NCBI

Tabela. Profil ekspresyjny fragmentów cDNA-AFLP sekwencjonowanych w roku 2018, ich homologia i funkcja.

Lp.	fragment cDNA-AFLP	startery AFLP	wielkość produktu [pz]	odmiana*	Homologia BLAST	E value	funkcja
nadekspresja w roślinach infekowanych <i>P. brassicae</i>							
1	103-189	P-CG/M-AA	151	rzepa ECD03, k.głowiasta 'Binsachsner', jarmuż 'Verheul', k.pekińska 'Bilko', rzepak 'Mendel'	Putative transposase-associated domain-containing protein, PRQ51341.1	1e ⁻⁰⁶	Regulacja ekspresji genów
2	104-189**	P-CG/M-AA	361	rzepa ECD03, k.głowiasta 'Binsachsner' jarmuż 'Verheul', k.głowiasta 'Kilaton' rzepak 'Mendel'	Hypothetical protein, OLSH56707.1	3e ⁻⁷²	nieznana
3	106-189	P-CG/M-AA	316	brukiew 'Wilhelmsburger', rzepa ECD03, rzepak 'Mendel'	Protein NRT1/PTR FAMILY, XM_01069332.2	0,27	Transport komórkowy
4	110-189	P-CG/M-AA	322	jarmuż 'Verheul', rzepa ECD03, k.głowiasta 'Binsachsner', k.głowiasta 'Kilaton', rzepak 'Mendel'	brak homologii		
5	111-189	P-CG/M-AA	122	jarmuż 'Verheul', rzepa ECD03, k.głowiasta 'Binsachsner', k.pekińska 'Bilko', rzepak 'Mendel'	Unknown protein, EU024836.1	0,36	nieznana
6	112-189**	P-CG/M-AA	215	k.głowiasta 'Kilaton', rzepa ECD03, k.głowiasta 'Binsachsner', jarmuż 'Verheul', rzepak 'Mendel'	Fibronectin type III-containing domain protein, ENE80460.1	1e ⁻²³	Inne (horyzontalny transfer genów)
7	114-189	P-CG/M-AA	214	k.pekińska 'Bilko', k.głowiasta 'Binsachsner', jarmuż 'Verheul', rzepak 'Mendel'	Galacturonosyltransferase 13, XM_023040219.1	7,8	Inne (synteza pektyn w ścianie komórkowej)
8	11-201**	P-CA/M-TC	123	jarmuż 'Verheul', rzepa ECD03, k.głowiasta 'Kilaton', k.pekińska 'Bilko'	Unkown protein from Plasmodium cynomolgi LT841381.1	8,6	nieznana
9	14-201	P-CA/M-TC	187	k.pekińska 'Bilko', brukiew 'Wilhelmsburger', k.głowiasta 'Binsachsner', k.głowiasta 'Kilaton', rzepak 'Mendel'	Probable receptor-like protein kinase At5g24010, XM_016864596.1	1,7	Reakcje odpornościowe
10	1-201	P-CA/M-TC	164	rzepa ECD03, k.głowiasta 'Binsachsner', k.głowiasta 'Kilaton', k.pekińska 'Bilko'	Germacrene D synthase-like, XM_024344578.1	9e ⁻¹⁷	Reakcje odpornościowe, patogenezą
11	34.1-183	P-AG/M-CA	334	rzepa ECD03, brukiew 'Wilhelmsburger', k.głowiasta 'Binsachsner', k.głowiasta 'Kilaton', k.pekińska 'Bilko'	Protein indeterminated-domain 11-like, XM_013829349.2	0,42	Regulacja ekspresji genów
12	34.2-183	P-AG/M-CA	316	rzepa ECD03, brukiew 'Wilhelmsburger', k.głowiasta 'Binsachsner', k.głowiasta 'Kilaton', k.pekińska 'Bilko', rzepak 'Mendel'	brak homologii		
13	35.1-183	P-AG/M-CA	519	rzepa ECD03, k.głowiasta 'Kilaton'	histone-lysine N-methyltransferase ATX5 isoform X3, XP_024437843.1	2e ⁻¹⁰	Regulacja ekspresji genów

14	35.2-183	P-AG/M-CA	197	rzepa ECD03, k.głowiasta 'Kilaton', rzepak 'Mendel'	wybutosine-synthesizing protein 2/3/4, XM_011461686.1	3e ⁻⁰⁵	Regulacja ekspresji genów (metylacja)
15	37-183	P-AG/M-CA	335	brukiew 'Wilhelmsburger', rzepa ECD03, k.głowiasta 'Binsachsner', k.głowiasta 'Kilaton', k.pekińska 'Bilko', rzepak 'Mendel'	formin-like protein 5, XP_023928560.1	7e ⁻⁰⁴	Budowa cytoszkieletu
16	40.1-183	P-AG/M-CA	250	jarmuż 'Verheul', rzepa ECD03, k.głowiasta 'Kilaton'	eukaryotic translation initiation factor 2 subunit beta-like, XM_024327291.1	0,038	Regulacja ekspresji genów
17	43-183	P-AG/M-CA	240	k.głowiasta 'Kilaton', brukiew 'Wilhelmsburger', k.głowiasta 'Binsachsner'	microtubule-associated protein futsch-like, XM_011460190.1	7e ⁻¹⁰	Budowa cytoszkieletu
18	64-207	P-CA/M-CC	134	brukiew 'Wilhelmsburger', rzepa ECD03, k.głowiasta 'Binsachsner', jarmuż 'Verheul', k.pekińska 'Bilko', rzepak 'Mendel'	zinc finger CCCH domain-containing protein 15-like, XM_022120781.1	2,4	Regulacja ekspresji genów
19	67-207	P-CA/M-CC	315	jarmuż 'Verheul', rzepa ECD03, brukiew 'Wilhelmsburger', k.głowiasta 'Binsachsner', k.głowiasta 'Kilaton'	kinase non-catalytic C-lobe domain-containing protein 1 isoform X2, XP_004942222.3	3,5	Transdukcja sygnału
20	68-207	P-CA/M-CC	138	k.pekińska 'Bilko', rzepa ECD03, brukiew 'Wilhelmsburger', k.głowiasta 'Binsachsner', jarmuż 'Verheul', rzepak 'Mendel'	ATP synthase subunit b, chloroplastic, PHT45330.1	0,66	Inne (oddychanie komórkowe)
21	70-207	P-CA/M-CC	152	rzepak 'Mendel', rzepa ECD03, brukiew 'Wilhelmsburger', k.głowiasta 'Binsachsner', jarmuż 'Verheul'	mediator of RNA polymerase II transcription subunit 25, XM_024336364.1	6e ⁻¹⁹	Reakcje odpornościowe
22	71-171	P-TA/M-TG	195	rzepa ECD03, brukiew 'Wilhelmsburger', k.głowiasta 'Binsachsner', k.głowiasta 'Kilaton'	cyclin-Y-like protein 1, XM_022469660.1	2,4	Regulacja cyklu komórkowego
23	72-171	P-TA/M-TG	347	rzepa ECD03, k.pekińska 'Bilko', rzepak 'Mendel'	alpha/beta fold hydrolase, WP_073512592.1	4e ⁻⁵²	Reakcje odpornościowe
24	75-171	P-TA/M-TG	132	brukiew 'Wilhelmsburger', rzepa ECD03, k.głowiasta 'Binsachsner', k.głowiasta 'Kilaton', k.pekińska 'Bilko'	cadmium/zinc-transporting ATPase HMA3-like, XM_021982942.1	1,4	Inne (detoksyfikacja organizmu)
25	77-171	P-TA/M-TG	228	k.głowiasta 'Binsachsner', jarmuż 'Verheul', k.głowiasta 'Kilaton', k.pekińska 'Bilko'	ribosome-binding protein 1, XM_008224782.1	5,2	Reakcje odpornościowe
26	79-171	P-TA/M-TG	208	jarmuż 'Verheul', k.głowiasta 'Binsachsner', k.głowiasta 'Kilaton', k.pekińska 'Bilko'	uncharacterized protein, XP_004309187.1	3e ⁻¹²	nieznana
27	80-171	P-TA/M-TG	235	k.głowiasta 'Kilaton', rzepa ECD03, k.pekińska 'Bilko', rzepak 'Mendel'	pentatricopeptide repeat-containing protein, XM_004308198.1	6e ⁻¹⁴	Regulacja ekspresji genów
28	83-171	P-TA/M-TG	169	k.pekińska 'Bilko', rzepa ECD03, k.głowiasta 'Binsachsner', k.głowiasta 'Kilaton'	unknown protein, LS992097.1	0,19	nieznana
29	122-247	P-GT/M-GG	269	rzepa ECD03, k.głowiasta 'Kilaton', rzepak 'Mendel'	receptor protein kinase TMK1, XP_008467095.1	4,5	Reakcje odpornościowe
30	124-247	P-GT/M-GG	182	k.głowiasta 'Binsachsner', brukiew 'Wilhelmsburger', jarmuż 'Verheul'	brak homologii		
31	125-247	P-GT/M-GG	625	k.głowiasta 'Kilaton', rzepa ECD03, rzepak 'Mendel'	eukaryotic translation initiation factor 3 subunit C-like, XP_004299722.1	4e ⁻⁶⁰	Regulacja ekspresji genów
32	127-247	P-GT/M-GG	387	rzepak 'Mendel', rzepa ECD03, k.głowiasta 'Kilaton', k.pekińska 'Bilko'	probable serine/threonine-protein kinase cdc7, XM_023900799.1	9,9	Reakcje odpornościowe
wyciszenie w roślinach infekowanych <i>P. brassicae</i>							
33	105-189	P-CG/M-AA	294	rzepa ECD03, brukiew 'Wilhelmsburger', rzepak 'Mendel'	Unknown protein, LS992082.1	0,58	nieznana
34	107-189	P-CG/M-AA	279	brukiew 'Wilhelmsburger', rzepa ECD03, rzepak 'Mendel'	Uncharacterized protein, XM_022143086.1	3,3	nieznana

35	109-189	P-CG/M-AA	288	k.głowiasta 'Binsachsner', rzepa ECD03, jarmuż 'Verheul', k.głowiasta 'Kilaton', rzepak 'Mendel'	brak homologii		
36	113-189	P-CG/M-AA	254	k.głowiasta 'Kilaton', rzepa ECD03, k.głowiasta 'Binsachsner', jarmuż 'Verheul', rzepak 'Mendel'	brak homologii		
37	116-189	P-CG/M-AA	254	rzepak 'Mendel', rzepa ECD03, brukiew 'Wilhelmsburger', k.głowiasta 'Kilaton'	Galactokinase, XM_008225183.2	9e ⁻¹⁶	Inne (metabolizm galaktozy)
38	12-201	P-CA/M-TC	141	jarmuż 'Verheul', rzepa ECD03, brukiew 'Wilhelmsburger', k.głowiasta 'Binsachsner', k.pekińska 'Bilko', rzepak 'Mendel'	brak homologii		
39	3-201	P-CA/M-TC	214	rzepa ECD03, brukiew 'Wilhelmsburger', k.głowiasta 'Binsachsner', k.głowiasta 'Kilaton', rzepak 'Mendel'	coatomer subunit beta'-2-like, XM_019392522.1	1,7	Transport komórkowy
40	41.2-183	P-AG/M-CA	370	jarmuż 'Verheul', rzepa ECD03, brukiew 'Wilhelmsburger', k.głowiasta 'Binsachsner'	Asparagine synthetase domain-containing protein 1, OBZ84200.1	6,4	Regulacja ekspresji genów
41	44.1-183	P-AG/M-CA	551	k.pekińska 'Bilko', k.głowiasta 'Kilaton'	protein TSS isoform X1, XP_013749627.1	5e ⁻⁸⁵	Transdukcja sygnału
42	44.2-183	P-AG/M-CA	502	k.pekińska 'Bilko', rzepa ECD03, jarmuż 'Verheul',	hypothetical protein, KUM45774.1	5e ⁻⁰⁴	nieznana
43	61-243	P-GT/M-TC	307	k.pekińska 'Bilko', rzepa ECD03, brukiew 'Wilhelmsburger'	Unknown protein, LS992088.1	8,9	nieznana
44	63-207	P-CA/M-CC	146	rzepa ECD03, brukiew 'Wilhelmsburger', k.głowiasta 'Binsachsner', jarmuż 'Verheul', k.pekińska 'Bilko', rzepak 'Mendel'	ATP synthase CF0 subunit III, YP_009341764.1	8e ⁻⁰⁵	Inne (oddechowanie komórkowe)
45	76-171	P-TA/M-TG	122	k.głowiasta 'Binsachsner', rzepa ECD03 jarmuż 'Verheul' k.głowiasta 'Kilaton' k.pekińska 'Bilko'	brak homologii		
46	66-207	P-CA/M-CC	196	k.głowiasta 'Binsachsner', k.pekińska 'Bilko'	G2/mitotic-specific cyclin S13-7-like, XM_011042436.1	0,4	Regulacja cyklu komórkowego
47	73-171	P-TA/M-TG	150	rzepa ECD03, k.głowiasta 'Binsachsner', k.głowiasta 'Kilaton', k.pekińska 'Bilko'	prolyl endopeptidase-like, XM_020739840.1	6,3	Inne (dojrzwianie i degradacja białek)
48	74-171	P-TA/M-TG	359	brukiew 'Wilhelmsburger', k.pekińska 'Bilko'	brak homologii		
49	78-171	P-TA/M-TG	102	k.głowiasta 'Binsachsner', rzepa ECD03, brukiew 'Wilhelmsburger', k.głowiasta 'Kilaton', k.pekińska 'Bilko'	WUSCHEL-related homeobox 13, XM_021749837.1	6,3	Regulacja ekspresji genów
50	126-247	P-GT/M-GG	206	k.pekińska 'Bilko', rzepa ECD03, k.głowiasta 'Kilaton', rzepak 'Mendel'	FRIGIDA-like protein 4a, XM_023658571.1	0,025	Inne (różnicowanie komórek)

* w pierwszej kolejności wymieniono tę odmianę, z której dany fragment był izolowany

** gen prawdopodobnie pochodzący od patogena