



Charakterystyka profili ekspresji (GEP) wybranych genów w kontekście kształtowania odpowiedzi roślin jabłoni na porażenie *Erwinia amylovora*

WSTĘP

Zaraza ogniowa jabłoni (FB) jest wywołana przez Gram-ujemną bakterię *Erwinia amylovora* (Burrill 1882). Stanowi ona poważny problem dla globalnej produkcji jabłek. Metody zwalczania choroby obejmują stosowanie związków miedzi, antybiotyków i biocydów, a także usuwanie zainfekowanych części roślin, co może powodować zanieczyszczenie środowiska. Istnieją również obawy dotyczące pojawienia się szczepów bakterii opornych na antybiotyki. Zwalczanie zarazy ogniowej jabłoni wymaga zintegrowanego podejścia do zwalczania patogenów (IPM), łączącego ścisłą higienę sadu, proaktywne zabiegi zapobiegawcze i staranną rotację środków chemicznych, aby zapobiec uodpornieniu się patogenów. Jednym z najbardziej obiecujących sposobów ograniczenia ryzyka wystąpienia choroby jest uprawa odmian odpornych, której ważną jest wczesna selekcja roślin o najniższej podatności na bakterię oraz ich molekularna charakterystyka.

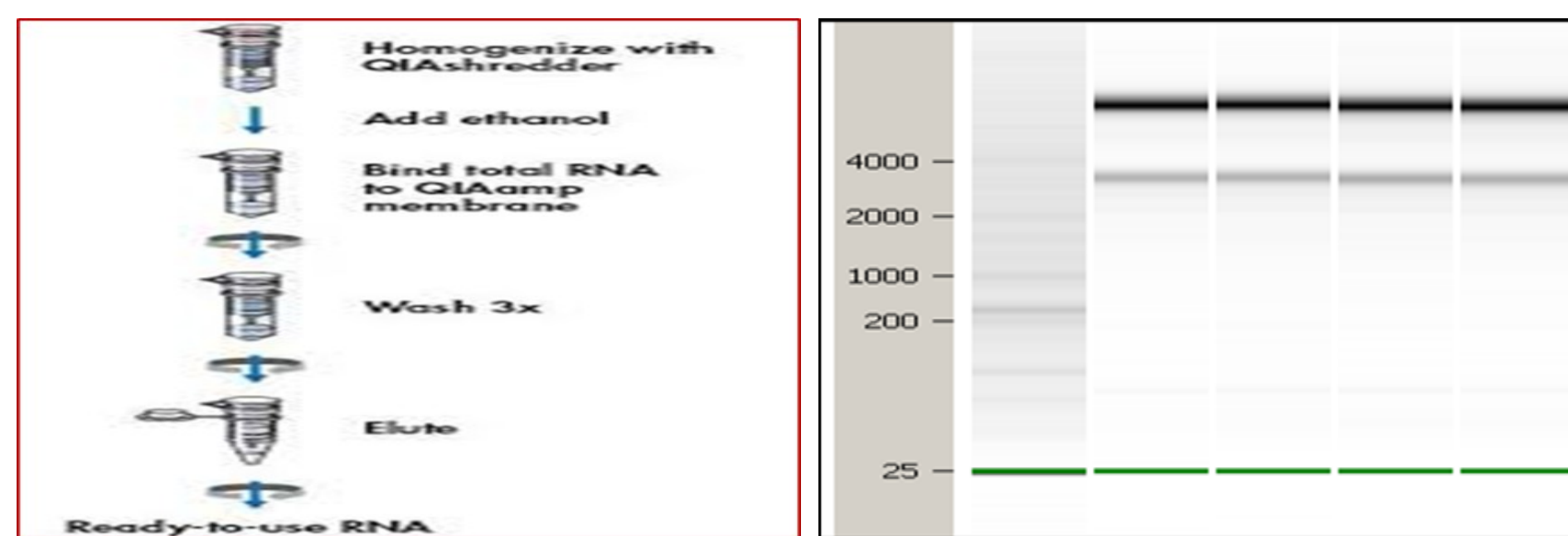
Celem rozpoznania wczesnego mechanizmu odporności roślin na zakażenie *E. amylovora* oznaczyliśmy profile ekspresji wybranych genów (GEP) w zainfekowanych tkankach roślinnych.

MATERIAŁY I METODY

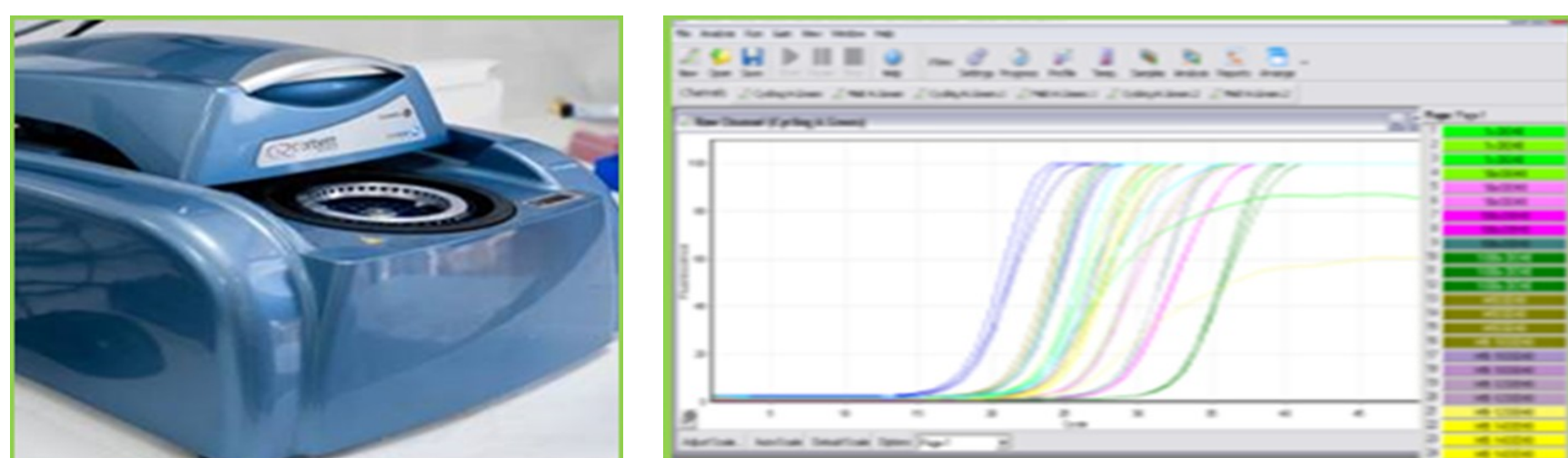
- Materiał roślinny:** młode liście 4 klonów jabłoni hodowli IO-PIB tj: Goldin' (nr 64) ('Rubin' x 'Gold Milenium'), 'Wars' (nr 23) ('Sawa' x 'Rubin'), nr 28 ('Gold Milenium' x 'Szampion'), nr 58 ('J-79' x 'Rubinola'), nr 1 ('Rubin' x 'Gold Milenium'), nr 16 ('Melfree' x 'Topaz'), 'Freemal' ('Gold Milenium' x 6518 *Malus floribunda* 821).
- Inokulacja roślin** (Fot. 1, 2, 3) - ucięcie dwóch najmłodszych liści nożyczkami zanurzonymi w wodnej zawieszynie wysoko wirulentnego dzikiego szczepu bakterii *Erwinia amylovora* Ea 659;



- Kolekcjonowanie materiału:** z ww. roślin kolekcjonowano liście przed (próby kontrolne) oraz 24, 48, 72, 120 hpi;
- Izolacja RNA:** (kolumny Qiagen RNeasy Plant kit);



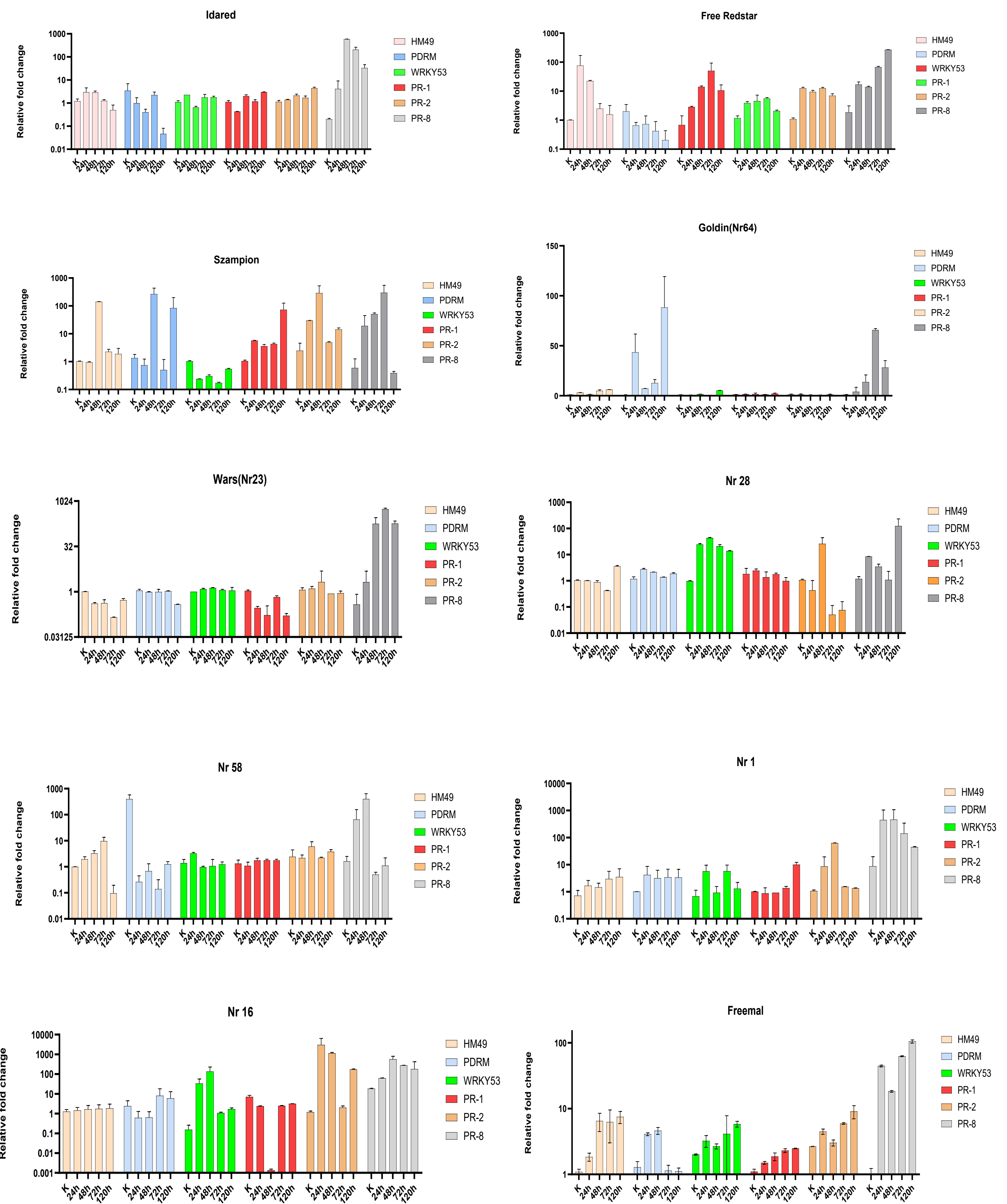
- Odwrotna transkrypcja (RT):** (AffinityScript QPCR cDNA Synthesis Kit (Agilent) – w obecności uniwersalnego startera oligo-dT i odwrotnej transkryptazy; 25°C/ 5 min., 42°C/ 5 min. – 55°C/ 15 min - RT, 95°C/ 5 min. – (termocyklery Biometra Basic).
- Amplifikacja produktów qPCR:** warunki termiczne: 95°C/ 2 min., 60°C/ 30s. – 72°C/ 20 s- RT (odczyt fluorescencji);
- Opracowanie profili ekspresji genów:** w odniesieniu do ekspresji referencyjnego genu Md18sRNA (koduje domenę 18S RNA) (RotorGene 6000 Series Software v. 1.7).



- Wizualizacja profili ekspresji:** genów w programie GraphPad PRISM 10.3.

WYNIKI

Analizując aktywność trzech genów, kodujących czynniki transkrypcyjne aktywujące geny z grupy (PR) *pathogenesis related genes*: HM49, PRDM, WRKY53 (wykresy) i trzech genów PR: PR-1, PR-2 i PR-8 scharakteryzowaliśmy poziom odporności klonów jabłoni: 'Goldin' (nr 64) 'Wars' (nr 23), nr 28, nr 58, nr 1, nr 16, 'Freemal'.



- Badane genotypy pogrupowano pod względem odpowiedzi na porażenie *E. amylovora* na: odporne 'Free Redstar', 'Freemal' i Nr 16, Nr 28; średnio wrażliwe 'Szampion', Wars(Nr23), Nr 58; wrażliwe 'Idared', Goldin (Nr 64) i Nr 1.
- We wszystkich badanych próbach reprezentujących genotypy odporne nadekspresję badanych genów odnotowano 72h po inokulacji.
- We wszystkich badanych genotypach odnotowano wysoką aktywność genu PR8, co świadczy o jego aktywności na

PODSUMOWANIE

- Na podstawie przeprowadzonej oceny wykazano zależność aktywności badanych genów w odniesieniu do tempa (godzin) rozwoju i postępu procesu chorobotwórczego. Nasze obserwacje potwierdziły także, że badane geny uczestniczą w kształtowaniu odpowiedzi roślin na porażenie *E. amylovora* już na wczesnym etapie rozwoju choroby.
- Metoda GEP zastosowana w naszych badaniach pozwoliła na rozpoznanie procesu obronnego badanych roślin po porażeniu *E. amylovora*. Dodatkowo, scharakteryzowane geny mogą być wykorzystane jako potencjalne markery funkcjonalne do wczesnej selekcji nowo wytworzonych odmian jabłoni oraz monitorowania statusu odporności roślin tego gatunku na zarazę ogniową.