

**MONIKA MARKIEWICZ**<sup>1</sup>**LECH MICHALCZUK**<sup>1</sup>**AGNIESZKA CZAJKA**<sup>2</sup><sup>1</sup> Zakład Biologii Stosowanej, Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice<sup>2</sup> Zakład Fitopatologii, Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice

e-mail: monika.markiewicz@inhort.pl

## Analiza ekspresji wybranych genów związanych z reakcjami odpornościowymi roślin z rodzaju *Brassica* infekowanych różnymi patotypami *Plasmodiophora brassicae*\*

Kiła kapusty wywołwana przez śluzorośle *Plasmodiophora brassicae* Wor., powoduje ogromne straty w uprawach roślin kapustowatych. Patogen wyniszcza system korzeniowy roślin żywicielskich, porażone rośliny w krótkim czasie więdną i zamierają. Szacuje się, że blisko 30% plantacji warzyw kapustnych i rzepaku w Polsce jest porażonych przez tę chorobę. Kiłę kapusty można zwalczać chemicznie oraz przez stosowanie metod agrotechnicznych, jednak nie eliminują one choroby, a jedynie pozwalają obniżyć jej szkodliwość. Prace hodowlane w obrębie rodzaju *Brassica* utrudniają skomplikowane relacje genetyczne pomiędzy poszczególnymi gatunkami roślin kapustowatych, a także duże zróżnicowanie genetyczne patogena, który szybko może przełamywać odporność genetyczną roślin w warunkach intensywnej uprawy.

Celem badań jest analiza ekspresji wybranych genów zaangażowanych w reakcje odpornościowe badanych genotypów podczas infekcji różnymi patotypami patogena.

Materiał do badań stanowiło siedem genotypów z rodzaju *Brassica* powszechnie uważanych za genotypy odporne na kiłę kapusty: rzepa ECD03, brukiew 'Wilhelmsburger', kapusta głowiasta 'Binsachsner' i 'Kilaton F<sub>1</sub>', jarmuż 'Verheul', kapusta pekińska 'Bilko F<sub>1</sub>' i rzepak 'Mendel F<sub>1</sub>' oraz jeden genotyp podatny na porażenie przez patogena — kapusta chińska 'Granaat'. Badania prowadzono na próbach RNA izolowanych z korzeni roślin inokulowanych trzema patotypami patogena (Pb2, Pb9 oraz Pb3) pobranych po 10, 20 i 35 dniach wzrostu roślin w zainfekowanym podłożu. Obecność patogena w pobranym do analiz materiale roślinnym potwierdzono

\* Badania finansowane przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi w ramach zadania nr 99 Badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej.

wykonywując ocenę makroskopową korzeni oraz określając ilość DNA patogena przy pomocy testów qPCR. Analizie ekspresji poddano cztery geny zaangażowane w reakcje odpornościowe: gen kodujący dysmutazę ponadtlenkową SOD odpowiedzialną za rozkład reaktywnych form tlenu we wczesnej fazie infekcji, gen kodujący białko G odpowiedzialne za rozpoznanie patogena, gen kodujący białko NPR1 odpowiedzialne za indukcję genów odporności typu PR oraz gen oksydazy NADPH uczestniczący w produkcji reaktywnych form tlenu (ROS).

Poziom ekspresji badanych genów w roślinach zainfekowanych *P. brassicae* był zróżnicowany w zależności od genotypu rośliny oraz patotypu patogena. Najwyższy poziom względnej ekspresji badanych genów związanych z reakcjami odpornościowymi obserwowano u 3 genotypów: brukwi 'Wilhelmsburger', jarmużu 'Verheul' oraz kapusty głowiastej 'Kilaton F<sub>1</sub>'. Najniższy poziom względnej ekspresji tych genów obserwowano u rzepy ECD03, kapusty głowiastej 'Binsachsner', kapusty pekińskiej 'Bilko F<sub>1</sub>' oraz rzepaku 'Mendel F<sub>1</sub>'. Porównując wartości względnej ekspresji badanych genów w zależności od patotypu *P. brassicae*, wywnioskować można, że infekcja patotypem Pb9 wywołuje najsilniejszą reakcję roślin na stres wywołany porażeniem przez patogena.

Względna ekspresja genu kodującego SOD u większości genotypów wzrastała w czasie infekcji. W przypadku rzepy ECD03, kapusty pakińskiej 'Bilko F<sub>1</sub>' oraz rzepaku 'Mendel F<sub>1</sub>' wzrost względnej ekspresji tego genu następował dopiero w 20. dniu od wysiania nasion, po czym spadał w 35. dniu. Podobną zależność obserwowano w przypadku ekspresji genu kodującego białko G u trzech genotypów ('Binsachsner', 'Kilaton F<sub>1</sub>', 'Mendel F<sub>1</sub>'). Także u trzech genotypów obserwowano spadek względnej ekspresji genu kodującego to białko w czasie infekcji: najwyższy poziom ekspresji widoczny był w 10. dniu od wysiania nasion, najniższy w 35. dniu, co może świadczyć o wyciszeniu reakcji odpornościowej w komórkach roślin. Tylko u jarmużu 'Verheul' infekowanego patotypem Pb9, widać wyraźny wzrost ekspresji genu kodującego białko NPR1 w czasie trwania doświadczenia. Także u jednego z genotypów – kapusty głowiastej 'Kilaton F<sub>1</sub>' obserwowano spadek ekspresji tego genu. W przypadku względnej ekspresji genu kodującego oksydazę NADPH (białko RbohG), u żadnego z badanych genotypów nie zaobserwowano wzrostu ekspresji tego genu. U większości badanych genotypów infekowanych patogenem obserwowano spadek ekspresji tego genu w czasie trwania doświadczenia. U dwóch genotypów: brukwi 'Wilhelmsburger' oraz jarmużu 'Verheul' najwyższy względny poziom ekspresji genu obserwowano w 10. oraz 35. dniu od wysiania nasion, co może być spowodowane infekcją wtórną. Co ciekawe, tylko u jednego badanego genotypu — brukwi 'Wilhelmsburger' infekowanego patotypem Pb9 — obserwowano wyższy względny poziom ekspresji wszystkich badanych genów w 10. oraz 35. dniu od wysiania nasion. Może to wskazywać na reakcję rośliny na infekcję wtórną.

Analiza ekspresji i funkcji genów kodujących białka zaangażowane w reakcje obronne pozwoli na zrozumienie mechanizmów leżących u podstawy odporności na kilę i na wytypowanie nowych źródeł odporności, co z kolei umożliwi opracowanie bardziej efektywnej strategii hodowlanej w obrębie rodzaju *Brassica*.