

MONIKA RAKOCZY-TROJANOWSKA¹

MAGDALENA ŚWIĘCICKA¹

BEATA BAKERA¹

ANNA WLAZŁO¹

MARTA DMOCHOWSKA-BOGUTA²

WACŁAW ORCZYK²

MARIUSZ KOWALCZYK³

ANNA STOCHMAL³

¹ Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

² Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy, Radzików

³ Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa — Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

Benzoksazynoidy — skuteczna broń żyta przeciwko stresom biotycznym i abiotycznym*

Benzoksazynoidy (BX) są metabolitami wtórnymi, występującymi głównie u gatunków z rodziny *Poaceae* i sporadycznie u gatunków roślin dwuliściennych, biorącymi udział w reakcjach odpornościowych na stresy biotyczne i abiotyczne oraz w allelopatii (Niemeyer, 2009; Makowska i in., 2015). Wieloetapową biosyntezę tych związków u kukurydzy, najlepiej pod tym względem poznanego gatunku, kontroluje 14 genów: *Bx* (*Bx1* — *Bx14*), *glu* i *GT* (Frey i in., 2009, Meihls i in. 2013, Handrick i in., 2016). U żyta dotychczas wyizolowano 9 genów — *ScBx1* – *ScBx7*, *Scglu* i *ScGT* (Sue i in., 2011; Bakera i in., 2015; Tanwir i in., 2017). Ponadto, w naszym zespole sklonowano gen *ScIgl*, który przejmuje rolę genu *ScBx1* w późniejszych stadiach rozwojowych (Rakoczy-Trojanowska i in., 2018; plakat Wlazło i in., 2019).

Żyto charakteryzuje się szczególnie wysoką zawartością BX, jednak ich rola w odpowiedzi na stresy biotyczne (w tym obecność allelozwiązków wokół ryzosfery) i abiotyczne do czasu podjęcia badań przez nasz zespół była niejasna. Nieznana też była zależność poziomu ekspresji genów kontrolujących biosyntezę BX od wpływu czynników środowiskowych.

Celem prac badawczych prowadzonych w ramach projektu NCN Nr UMO-2015/19/B/NZ9/00921 było zbadanie czy i w jaki sposób wybrane stresy biotyczne i abiotyczne wpływają na biosyntezę BX oraz na ekspresję genów *ScBx*, *ScIgl* i *Scglu* u

*Badania finansowane z projektu NCN Nr UMO-2015/19/B/NZ9/00921

trzech wsobnych linii żyta: L318, D33 i D39 wytypowanych na podstawie wcześniejszych eksperymentów.

STRESY BIOTYCZNE

Allelozwiązki. Stwierdzono, że ko-uprawa żyta z koniczyną Aleksandryjską wpływa zarówno na ekspresję genów *ScBx*, *ScIgl* i *Scglu*, jak i syntezę BX, jednak reakcja jest uzależniona od genotypu, części rośliny (korzenie, części nadziemne), czasu trwania ko-uprawy; różnice dotyczyły też poszczególnych genów i metabolitów. W odniesieniu do ekspresji genów największe różnice zaobserwowano u linii D39, w nadziemnych częściach roślin, po 6 tygodniach uprawy z koniczyną. Największe zmiany poziomu biosyntezy BX stwierdzono w korzeniach linii D33 po 4 tygodniach uprawy z koniczyną. Ko-uprawa z koniczyną miała największy wpływ na ekspresję genu *ScBx3* i syntezę dwóch metabolitów: GDIOA i DIOA. W blisko 55% przypadków synteza BX była istotnie skorelowana z ekspresją genów. W niektórych przypadkach zmianom ekspresji genów i syntezy metabolitów w korzeniach roślin uprawianych z koniczyną towarzyszyły takie same zmiany w częściach nadziemnych.

Inokulacja *Puccinia recondita f.sp. secalis* (*Prs*). Inokulacja *Prs* spowodowała wzrost ekspresji genów *ScBx1*, *ScBx2* i *ScBx4* u wszystkich linii żyta po 8 godzinach od inokulacji oraz genu *ScBx3* u linii L318, i genu *ScBx4* u linii D39 — po 48 godzinach od inokulacji. W pierwszym punkcie czasowym obserwowano strzępki penetrujące, a w drugim — komórki macierzyste haustoriów. Analizy ekspresji genów *ScBx* i *ScIgl* w korzeniach są w trakcie wykonywania i ich wyniki zostaną zaprezentowane podczas konferencji.

STRESY ABIOTYCZNE

Stres podwyższonego zasolenia. Zbadano profile ekspresji sześciu genów: *ScBx1*–*ScBx6* u 11 niespokrewnionych linii wsobnych żyta, po 4 i 24 godzinach od zainicjowania stresu (podlanie roślin roztworem 100 mM NaCl). Poziom ekspresji genów *ScBx1*–*ScBx4* osiągał najwyższą wartość po 4 godzinach od zainicjowania stresu, a po upływie 24 godzin ulegał obniżeniu, ale nadal był wyższy niż w warunkach kontrolnych. Geny *ScBx5* i *ScBx6* ulegały ekspresji na poziomie nie różniącym się istotnie od kontroli, niezależnie od linii i czasu wzrostu w warunkach stresu.

Jarowizacja. Poziom ekspresji wszystkich badanych genów — *ScBx1*–*ScBx5*, *ScIgl* oraz *Scglu* po okresie 7-tygodniowej jarowizacji w komorze fitotronowej zmniejszył się. Jednak w kolejnych punktach czasowych (1 i 3 tygodnie uprawy w podwyższonej temperaturze), poziom ekspresji genów w częściach nadziemnych roślin, które były poddane jarowizacji był wyższy, niż u roślin w tym samym wieku, ale nie poddanych stresowi niskiej temperatury. Odwrotną relację obserwowano w przypadku korzeni, z wyjątkiem genu *ScIgl* kodującego liazę indoglicerolową (IGL), którego profil ekspresji był podobny w obu częściach roślin. W korzeniach wszystkich badanych linii oraz w częściach nadziemnych linii D33 i D39, ekspresja genu *ScBx1* (również kodującego IGL)

po 1 tygodniu uprawy w podwyższonej temperaturze (zarówno u roślin, które były poddane jarowizacji, jak i u kontrolnych) była niewykrywalna; natomiast ekspresja genu *ScIgl* (również kodującego IGL) utrzymywała się na stałym poziomie, niewiele niższym niż u roślin 3-tygodniowych.

Na podstawie uzyskanych wyników można wyciągnąć jednoznaczny wniosek, że BXy pełnią istotną funkcję w reakcji na oba rodzaje stresów. Po raz pierwszy wykazano, że modyfikowana jest zarówno ekspresja genów kontrolujących biosyntezę BX, jak i sama biosynteza. Stwierdzono, że żyto jest nie tylko donorem allelozwiązków, ale również reaguje na ich obecność w ryzosferze uruchamiając mechanizmy obronne, a BX mogą być ich istotnym elementem. W niektórych przypadkach zaobserwowano przekazywanie sygnału o zaistnieniu sytuacji stresowej z korzeni do nadziemnych części roślin i odwrotnie. Szczególnie interesujące wydają się wyniki w odniesieniu do genów *ScBx1* i *ScIgl*, które zaprzeczają niektórym z powszechnie powielanych opinii.

LITERATURA

- Bakera B, Makowska B, Groszyk J i in. 2015. DOI: 10.1007/s13353-015-0271-z.
Frey M., Schullehner K., Dick R. i in. 2009. DOI: 10.1016/j.phytochem.2009.05.012.
Handrick V., Robert C.A.M., Ahern K. R. i in. 2016. DOI.org/10.1105/tpc.16.00065.
Meihls LN, Handrick V, Glauser G i in. 2013. DOI.org/10.1105/tpc.113.112409.
Niemeyer H. M. 2009. DOI: 10.1021/jf8034034.
Rakoczy-Trojanowska M., Święcicka M., Rymuszka J., Stochmal A., Kowalczyk M. 2018. EUCARPIA Cereal Section / IWIW2 Meetings, March 19-22, 2018. Polydôme, Clermont-Ferrand, France: PI-23.
Sue M., Nakamura C., Nomura T. 2011. DOI.org/10.1104/pp.111.182378.
Tanwir F., Dionisio G., Adhikari K. B. i in. 2017. DOI.org/10.1016/j.phytochem.2017.04.020.