



# Toksyny białkowe *Parastagonospora nodorum*

Jakub Walczewski, Edward Arseniuk, Piotr Ochodzki

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin PIB, Radzików, 05-870 Błonie



## Wstęp:

*Parastagonospora nodorum* jest nekrotroficznym patogenem pszenicy oraz pszenżyta. Po infekcji powoduje powstawanie nekrotycznych obszarów tkanki, w której się rozwija, oraz z której się rozprzestrzenia zarówno w obrębie tej samej rośliny jak i roślin przyległych. Pojawienie się grzyba w okresie wysokiej wilgotności i temperatury może doprowadzić do poważnego obniżenia plonowania na drodze zmniejszenia powierzchni fotosyntetycznie czynnej liści oraz uszkodzeń plew. W ciągu kilku ostatnich lat pojawiły się doniesienia o wytwarzaniu przez *P. nodorum* białkowych toksyn pełniących kluczową rolę w indukcji zmian nekrotycznych w zainfekowanej tkance żywiciela. Toksyny te wchodzą w interakcję ze specyficznymi genami gospodarza, pozytywne rozpoznanie z dominującą formą genu prowadzi do indukcji nekrozy, natomiast w przypadku obecności jedynie recesywnej formy obserwuje się niewrażliwość na daną toksynę [Friesen i inni 2007]. Nie stwierdzono żadnych negatywnych skutków eliminacji dominujących alleli warunkujących podatność na toksyny, stwierdzono natomiast wzrost odporności fenotypowej [Olivier i inni 2014].

## Materiały i metody:

Wybrane izolaty *P. nodorum* były hodowane na pożywce płynnej Fries, przez 3 tygodnie. Następnie medium było filtrowane i poddawane dializie. Dializaty poddawano chromatografii jonowymiennej na złożu HiTrap SPXL i sączeniu żelowego na wypełnieniu Superdex30.

Drugie liście trzech siewek dla każdego badanego obiektu były infiltrowane roztworem oczyszczonej toksyny. Ocena wykonana po około 5-6 dniach. Obiekty odporne nie wykazywały żadnych zmian, wśród obiektów podatnych wyróżniono obiekty całkowicie podatne, oraz takie u których występował pośredni poziom reakcji.

Rośliny w doświadczeniach polowych oraz w doświadczeniach fitotronowych były zakażane wodną mieszaniną zarodników kilkunastu izolatów z polskiej populacji *P. nodorum*. W doświadczeniu fitotronowym w stadium siewki, wynikiem oceny był średni procent powierzchni porażonej tkanki. W doświadczeniu w warunkach polowych ocena była średnim wynikiem 5 krotnych ocen trzech zakażanych poletek wyrażonych w skali: 1 - całkowicie podatny, 9 - całkowicie odporny.

**Tablica 1.** Objawy zakażenia *P. nodorum*, w doświadczeniach fitotronowych i polowych



## Wyniki i wnioski:

Oczyszczone ekstrakty toksyn: Tox1, Tox3 i Tox5 zostały przetestowane na zestawie linii różnicujących. Powodowały one nekrozy tylko na liniach podatnych na daną toksynę, gwarantowało to że ekstrakty zawierały tylko pojedyncze toksyny. Ostateczna ocena przebadanych obiektów pszenicy i pszenżyta została wykonana po około 5-6 dniach. [Fotografia 1] Tabela 2 zawiera podsumowanie wyników doświadczenia.

Dane dotyczące odporności danych obiektów pszenicy i pszenżyta na toksyny zostały skorelowane z wynikami odporności fenotypowej na *P. nodorum* w stadium siewki w warunkach kontrolowanego środowiska, oraz w stadium rośliny dorosłej w warunkach polowych dla liści oraz kłosów. Związki korelacyjne zostały przedstawione w Tabeli 1.

## Dyskusja:

Wykazano istotne statystycznie dodatnie związki korelacyjne między odpornością na toksynę Tox3 i Tox5, a odpornością fenotypową na *P. nodorum* [Tabela 1]. Obiekty odporne na te toksyny charakteryzowały się wyższą odpornością fenotypową na badanego patogena niż obiekty podatne, zarówno w przypadku pszenicy jak i pszenżyta. Zależności te są zgodne z oczekiwaniami płynącymi z danych literaturowych, [Olivier i inni 2014].

W przypadku toksyny Tox1 w przebadanej próbie obiektów nie wykazano oczekiwanej na podstawie danych literaturowych dodatniej korelacji między odpornością na te toksynę a odpornością fenotypową na *P. nodorum*. Zamiast tego wśród obiektów pszenżyta wykazaliśmy istotne statystycznie, odwrócone związki korelacyjne łączące odporność fenotypową w stadium siewki, oraz odporność kłosów w stadium roślin dorosłych, [Tabela 1]. Wśród przebadanych obiektów pszenżyta i pszenicy tylko niewielka ich liczba okazała się podatna na tę toksynę [tabela 2], co w połączeniu z faktem że na rozwój choroby w doświadczeniach wpływ ma co najmniej 5 różnych toksyn może utrudniać ocenę faktycznego wkładu tej toksyny w wywołanie choroby.

Dalsze dane dotyczące wkładu poszczególnych toksyn na rozwój objawów chorobowych będą zbierane oraz analizowane w nadchodzących latach na poszerzonej liczbie obiektów.

Dotychczasowe badania potwierdziły, że możliwe jest uzyskanie odporniejszych odmian pszenicy i pszenżyta poprzez eliminację dominujących genów warunkujących podatność na toksyny.

## Cytowania:

Friesen T. L., Meinhardt S. W., Faris J. D. (2007). The *Stagonospora nodorum*-wheat pathosystem involves multiple proteinaceous host-selective toxins and corresponding host sensitivity genes that interact in an inverse gene-for-gene manner. The Plant Journal. 51: 681–692.

Oliver R., Lichtenzveig J., Tan K.C., Waters O., Rybak K., Lawrence J., Friesen T., Burgess P. (2014) Absence of detectable yield penalty associated with insensitivity to Pleosporales necrotrophic effectors in wheat grown in the West Australian wheat belt Plant Pathology 63: 1027–1032

## Projekt finansowany przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi

**Tabela 1.**

Wartości korelacji między odpornością na toksyny a odpornością w doświadczeniach fitotronowych i polowych. Im większa wartość korelacji tym silniejszy związek między odpornością na toksyny a odpornością na *P. nodorum*. Kolorem żółtym i zielonym oznaczono istotne statystycznie zależności dla poziomów istotności 0,05 i 0,08.

Pszenica	Tox1		Tox3		Tox5	
		Korelacja		Korelacja		Korelacja
	Fitotron	0,074	Fitotron	0,425	Fitotron	0,318
	NL Pole	-0,153	NL Pole	0,198	NL Pole	0,255
NK Pole		-0,071	NK Pole		0,075	0,139

Pszenżyto		Korelacja		Korelacja		Korelacja
	Fitotron	-0,229	Fitotron	0,439	Fitotron	0,286
	NL Pole	-0,139	NL Pole	0,213	NL Pole	0,222
	NK Pole	-0,27	NK Pole	0,235	NK Pole	0,2

Poziom istotności 0,05
Poziom istotności 0,08

**Fotografia 1.**

Zdjęcia liści infiltrowanych ekstraktem zawierającym toksynę Tox3, po 5 dniach.



**Tabela 2.**

Reakcja obiektów pszenicy i pszenżyta na oczyszczone ekstrakty zawierające toksyny Tox1, Tox3 i Tox5.

		Tox5				Tox3				Tox1	
			%				%				%
Pszenżyto	Odporne	25	28,4	25	29,1	82	93,2				
	Podatne	55	62,5	56	65,1	3	3,4				
	Lekko podatne	8	9,1	5	5,8	3	3,4				

		%				%				%	
Pszenica	Odporne	51	58,0	46	52,3	80	90,9				
	Podatne	18	20,5	38	43,2	6	6,8				
	Lekko podatne	19	21,6	4	4,5	2	2,3				