

Mgr Marta Dmochowska-Boguta
Doktorantka

Radzików, 2015-12-01

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy
Zakład Inżynierii Genetycznej w Radzikowie

Plant Breeding and Acclimatizations Institute - National Research Institute
Department of Genetic Engineering Radzików

Rozprawa doktorska

**pt.: „Analiza wybranych czynników genetycznych i biochemiczno-fizjologicznych
odporności pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.)
na rdzę brunatną (*Puccinia triticina*)”**

dla uzyskania stopnia doktora nauk rolniczych w dziedzinie: nauki rolnicze, dyscyplinie: agronomia
Promotor: prof. dr hab. Waclaw Orczyk

Streszczenie

Pszenica (*Triticum aestivum* L.) jest zbożem uprawianym na całym świecie, którego globalna produkcja zajmuje trzecie miejsce po kukurydzy i ryżu. Najważniejszymi celami hodowli pszenicy jest wysoki plon oraz odporność na stresy abiotyczne i biotyczne. Jedną z najważniejszych chorób jest rdza brunatna pszenicy powodowana przez grzyb *Puccinia triticina*. Straty powodowane przez tą chorobę mogą stanowić nawet 50% wielkości plonu. Najważniejszą metodą ochrony jest wykorzystanie odmian odpornych, dlatego poznanie mechanizmów odporności jest tak bardzo istotne.

Celem tej pracy była analiza interakcji pszenica – *Puccinia triticina*. Badano takie elementy tej interakcji, jak: rozwój patogena, reakcja mikronekrotyczna rośliny, wzór akumulacji nadtlenu wodoru i jego pochodzenie, odkładanie kalozy, lignifikacja oraz analiza ekspresji wybranych genów i klonów SSH.

Obserwowane objawy choroby były podstawą podziału badanych linii pszenicy na trzy grupy: linie podatne (Thatcher i *TcLr34*), średnio odporne (*TcLr24*, *TcLr25* i *TcLr29*) oraz odporne (*TcLr9*, *TcLr19* i *TcLr26*). Wybrane elementy interakcji roślina – patogen były oceniane na podstawie obserwacji mikroskopowych. W tym celu wykonano szereg analiz histochemicznych: barwienie calcofluorem white umożliwiło wizualizację struktur patogena, błękitem Evansa umożliwiło obserwację mikronekroz, DAB wybarwiając komórki z nadtlakiem wodoru pozwolił badać akumulację tej reaktywnej formy tlenu, błękitu aniliny użyto do barwienia kalozy oraz floroglucynolu do barwienia lignin. Na podstawie tych obserwacji stwierdzono, że mała liczba komórek macierzystych haustorium patogena, szybka akumulacja nadtlenu wodoru w mezofilu oraz szybkie pojawienie się reakcji nekrotycznej są charakterystyczne dla roślin wysoce odpornych i mogą być wyznacznikami wysokiej

odporności pszenicy na rdzę brunatną. Lignifikacja była obserwowana w miejscach infekcji u roślin średnio odpornych oraz odpornych. Proces ten, będący składnikiem mechanizmów odporności, jest skorelowany z akumulacją nadtlenu wodoru w mezofilu i reakcją mikronekrotyczną. Odkładanie kalozy było obserwowane u wszystkich roślin (podatnych i odpornych), dlatego prawdopodobnie nie ma ono kluczowego znaczenia dla badanego typu odporności.

Ekspresja genów kodujących peroksydazy i oksydazy NADPH oraz zastosowanie specyficznych inhibitorów tych enzymów dowiodła ich udziału w wytwarzaniu nadtlenu wodoru u badanych linii po inokulacji *Puccinia triticina*. Użycie azydku sodu jako inhibitora peroksydaz wskazuje na udział tej grupy enzymów w akumulacji H₂O₂ u siedmiu z ośmiu testowanych linii (TcLr9, TcLr19, TcLr24, TcLr25, TcLr29, TcLr34 oraz Thatcher). Infiltracja liści difenylenem jodoniowym – inhibitora oksydaz NADPH potwierdza rolę tego enzymu u linii TcLr26. Użycie 2-bromoetyloaminy inhibitora oksydazy diaminowej wskazuje, że ten enzym był aktywny u linii średnio odpornych (TcLr25 i TcLr29) oraz u linii odpornych (TcLr9, TcLr19 i TcLr26). Użycie 1,12-diaminododekanu będącego inhibitorem oksydazy poliaminowej wykazało, że ten enzym jest aktywny w procesie akumulacji nadtlenu wodoru w linii TcLr9. Analiza ekspresji peroksydaz i oksydaz NADPH wykazała ich udział w akumulacji nadtlenu wodoru, a wzory ekspresji tych enzymów były spójne z obserwacjami mikroskopowymi. Wzory ekspresji sześciu z ośmiu badanych genów reprezentowanych przez klony SSH wskazały na, ich potencjalny udział w reakcji odporności. Analiza bioinformatyczna pełnej sekwencji kodującej klonu JG968933 wykazała, że kodowanym białkiem jest kinaza związana ze ścianą komórkową TaWAK (wall association kinase). Wzór ekspresji genu *TaWAK*, z bardzo silną indukcją w czasie infekcji, sygnalizuje jego istotną rolę w reakcji odporności.