



UMCS

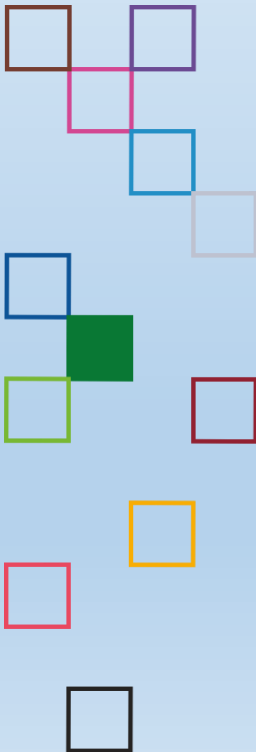
WYDZIAŁ BIOLOGII I BIOTECHNOLOGII

Indukcja szlaków odporności pszenicy przez egzopolimery zewnątrzkomórkowe (EPS) uzyskane z hodowli trzech izolatów *Fusarium culmorum* – PGPF, DRMO i patogena

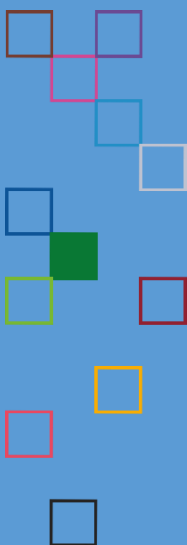
Artur Nowak, Renata Tyśkiewicz, Iwona Komaniecka, Jolanta Jaroszuk-Ściseł

artur.nowak@mail.umcs.pl

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, Wydział Biologii i Biotechnologii, Instytut Nauk Biologicznych, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin

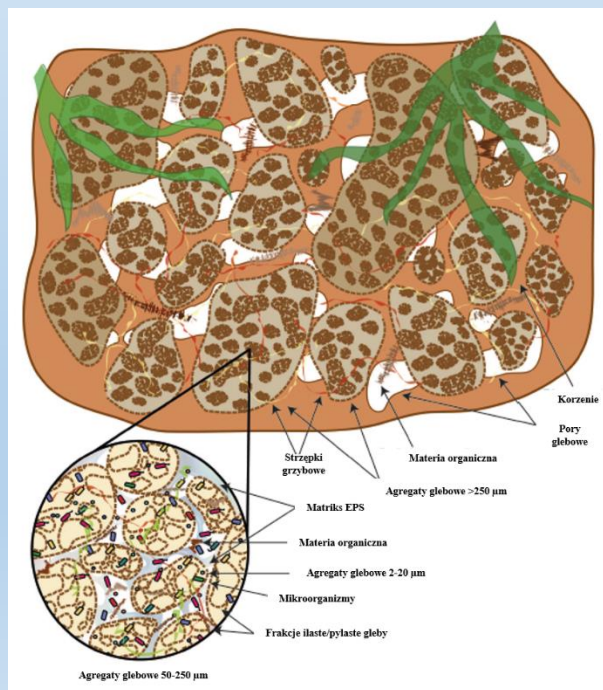
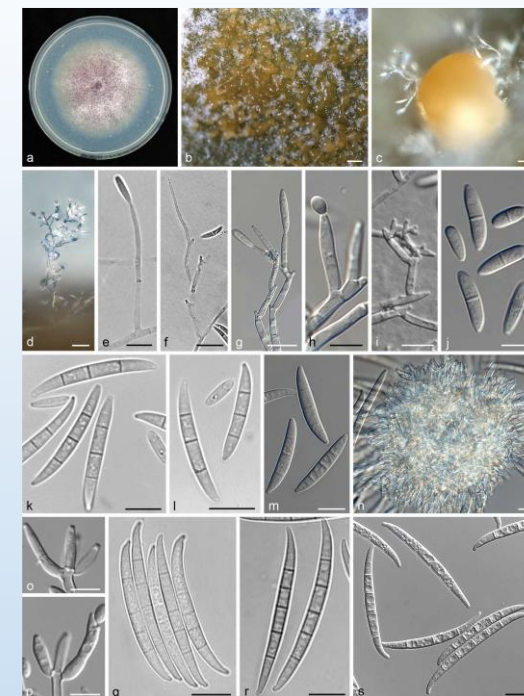


Charakterystyka rodzaju *Fusarium*



Domena: *Eucaryota* –
 Jądrowce
 Królestwo: Fungi – Grzyby
 Typ: Ascomycota – Workowce
 Klasa: *Sordariomycetes*
 Rząd: *Hypocreales*
 Rodzina: *Nectriaceae*
 Rodzaj: *Fusarium*
 „Sierpiki”

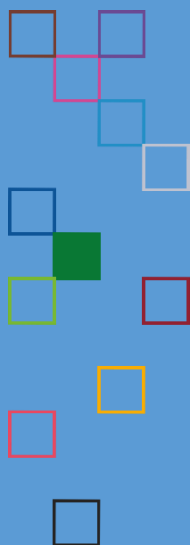
Fusarium to rodzaj grzybów strzępkowych szeroko rozpowszechnionych na całym świecie we wszystkich typach gleb. Wielu przedstawicieli tego rodzaju jest związanych z gospodarzami roślinnymi jako patogeny, saprotrofy i/lub endofity.



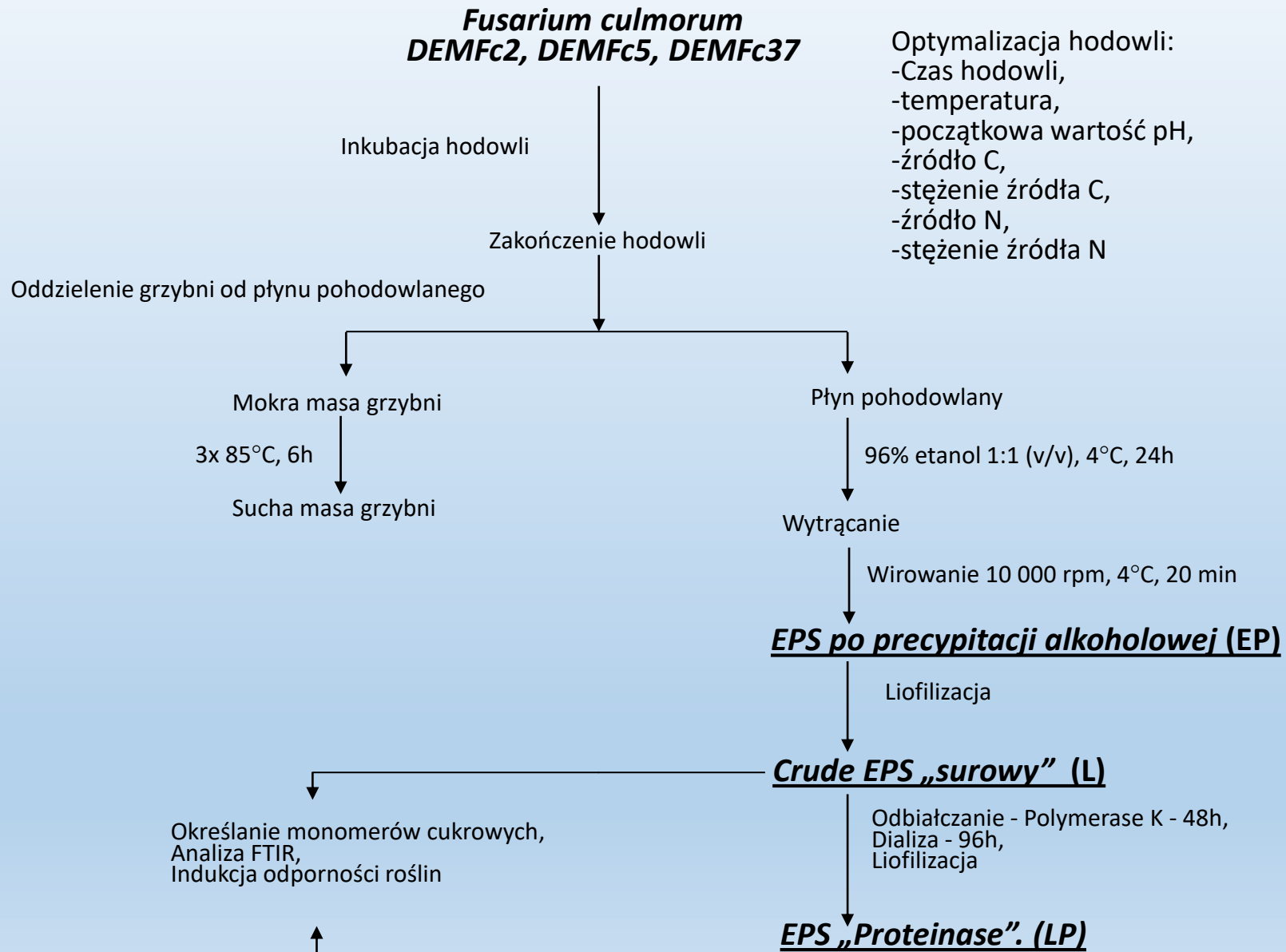
Polimery zewnątrzkomórkowe (**EPS**) w swoim składzie zawierają od 40% do 95% polisacharydów, pozostałą zaś część stanowią białka, związki fenolowe, pochodne kwasu uronowego, lipidy, pochodne związków aminowych. W skład rdzenia cukrowego wchodzi głównie glukoza, mannoza, galaktoza, ale i również fukoza lub arabinoza.

Związki te pozwalają na zwiększenie adaptacji do niekorzystnych warunków wzrostu, takich jak: ubytki składników odżywczych, zmiany temperatury, wahania wartości pH, działanie reaktywnych form tlenu (anion nadotlenkowy, rodnik hydroksylowy i nadtlenek wodoru), obecność środków powierzchniowo czynnych (niszczących błony lipidowe) oraz wielu grup antybiotyków.

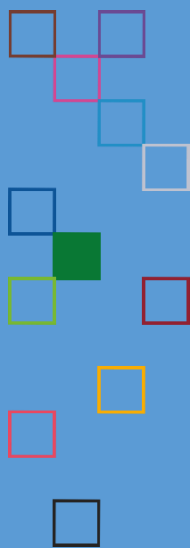
Materiały i Metody: Uzyskiwanie EPS Budowa EPS



Schemat uzyskiwania i badania EPS z hodowli szczepów *F. culmorum*



Indukcja odporności roślin



II ETAP:

Oznaczanie aktywności markerów szlaków odporności w korzeniach i łodygach siewek pszenicy

Ekstrakcja enzymów:

Enzymy ekstrahowano 50 mM buforem fosforanowym o pH 7.5 zawierającym w swoim składzie 1mM EDTA, 1mM PMSF, 1% PVPP.

Określenie aktywności enzymów markerowych:

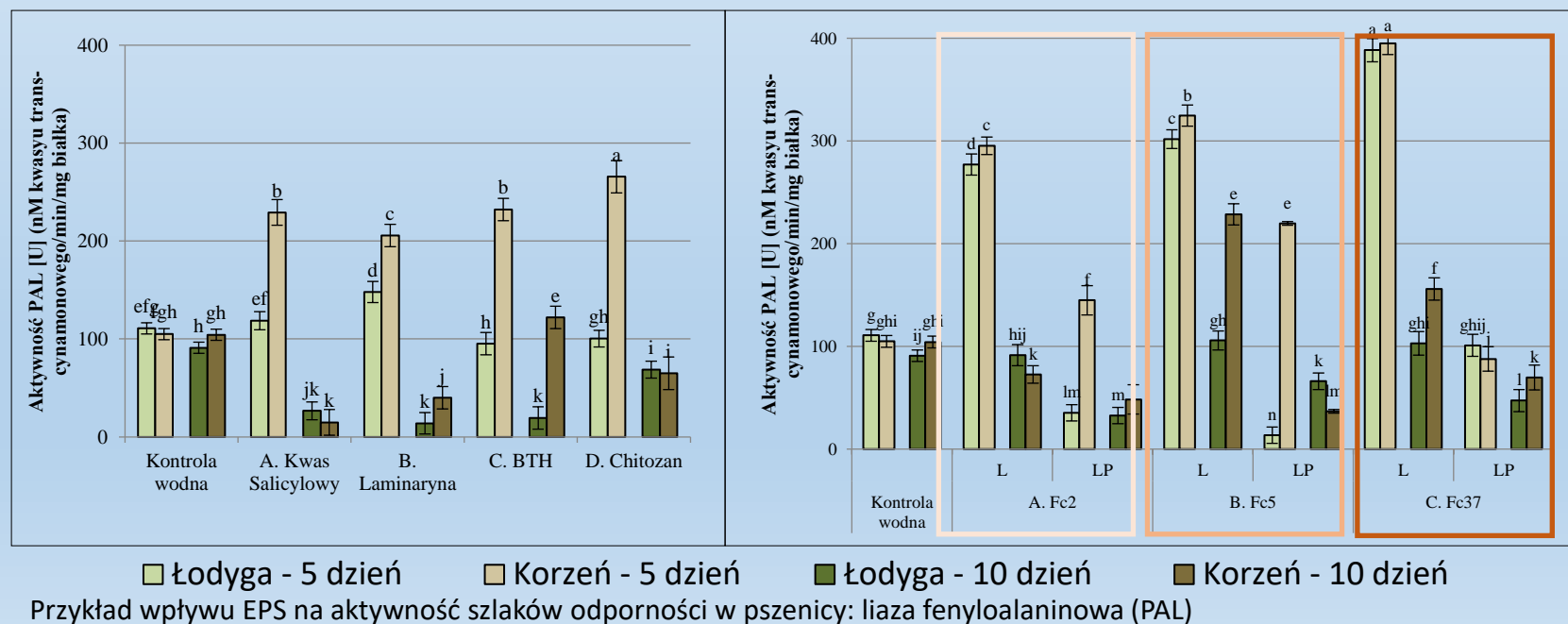
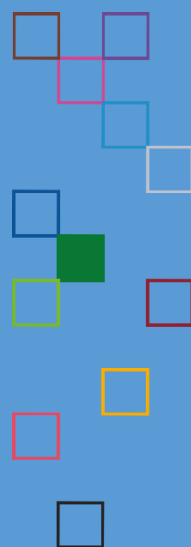
- **PAL - liazy fenyloalaninowej** – oznaczanie ilości powstałego kwasu trans-cynamonowego powstałego w wyniku transformacji L-fenyloalaniny (10 μ M) po okresie 60 minutowej inkubacji w buforze boranowym pH 7.7
- **TAL - liazy tyrozynowej** – oznaczanie ilości powstałego kwasu kumarowego powstałego w wyniku transformacji L-tyrozyny (10 μ M po okresie 60 minutowej inkubacji w buforze boranowym pH 7.7
- **CAT – katalazy** – na podstawie H₂O₂ (20mM) rozłożonego przez okres 1 minuty w buforze fosforanowym o pH 7.0
- **GPX - peroksydazy gwajakolowej** – na podstawie tetragwajakolu powstałego w wyniku transformacji gwajakolu (15mM) w obecności H₂O₂ (0,05%) do przez okres 1 minuty w buforze fosforanowym pH 6.5
- **APX - peroksydazy askorbinianowej** – na podstawie H₂O₂ (5mM) rozłożonego w obecności kwasu askorbinowego (0,25 mM) przez okres 3 minut w buforze fosforanowym o pH 7.0
- **GLUK – glukanaz** – na podstawie glukozy uwolnionej z laminaryny po 6h inkubacji w buforze octanowym pH 5.6 zawierającym 0.1% laminarynę
- **CHIT – chitynaz** - na podstawie N-acetyloglukazaminy uwolnionej z chityny koloidalnej (0.1%) po 6h inkubacji w buforze fosforanowym pH 5.6

Zaobserwowano wpływ elicytacji EPS na aktywność enzymów zaliczanych do szlaków odporności roślin:

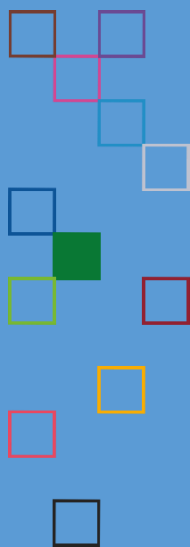
Określenie aktywności enzymów markerowych:

- **PAL - liazy fenyloalaninowej** – wzrost aktywności enzymów w 5 dniowych siewkach pszenicy po stymulacji EPS L - surowym
- **TAL - liazy tyrozynowej** – wzrost aktywności enzymów w 10 dniowych siewkach pszenicy po stymulacji EPS L - surowym
- **CAT – katalazy** – wzrost aktywności enzymów w 10 dniowych siewkach pszenicy po stymulacji EPS L – surowym i EPS LP - oczyszczonym
- **GPX - peroksydazy gwajakolowej** – wzrost aktywności enzymów w 10 dniowych siewkach pszenicy po stymulacji EPS L – surowym i EPS LP - oczyszczonym
- **APX - peroksydazy askorbinianowej** – wzrost aktywności enzymów w 10 dniowych siewkach pszenicy po stymulacji EPS L – surowym i EPS LP - oczyszczonym
- **GLUK – glukanaz** – wzrost aktywności enzymów w 10 dniowych siewkach pszenicy po stymulacji EPS LP - oczyszczonym
- **CHIT – chitynaz** – Brak istotnego wzrostu aktywności enzymów w tkankach pszenicy po stymulacji EPS

Wyniki



Wnioski



1. Szczepy należące do gatunku *Fusarium culmorum* wykazują zdolność do produkcji EPS, zależną od oddziaływania danego izolatu na roślinę.
2. EPS wszystkich badanych szczepów wykazuje zdolność do stymulacji aktywności markerów odporności roślin na poziomie elicytorów komercyjnych.