

Temperatura jest jednym z czynników środowiska, który wywiera ogromny wpływ na rozwój i aktywność nicieni. Zwierzęta te stanowią jedną z najliczniejszych grup zwierząt wielokomórkowych występujących w glebie. Dotychczas poznano ponad 8000 gatunków nicieni glebowych, spośród nich 10% należy do pasożytów roślin. Do najbardziej szkodliwych dla roślin należą guzaki korzeniowe (rodzina Meloidogynidae), które mogą żerować na ponad 3000 gatunkach roślin i powodować znaczne straty w uprawach. Pospolitym w Europie gatunkiem z tej rodziny jest guzak północny (*Meloidogyne hapla*). Jest on szczególnie groźny dla upraw, ponieważ występuje na szerokim spektrum roślin żywicielskich. Jego patogeniczność jest większa również ze względu na wysoką odporność na niskie temperatury, co pozwala mu przetrwać nawet srogie zimy w krajach takich jak Norwegia czy Szwecja.

Dotychczas badania nad tą grupą zwierząt skupione były m.in. na fizjologicznej odpowiedzi organizmu na stres termiczny, takiej jak oddziaływanie temperatury na rozwój jaj i wylęganie się osobników w drugim stadium rozwojowym (tzw. stadium młodocianym J2). Zauważono również, że temperatura wpływa na liczbę cząsteczek lipidowych zgromadzonych w organizmach osobników w stadium J2, co jest bardzo istotne, ponieważ warunkuje przeżywalność tych nicieni i skuteczność w zasiedlaniu korzeni roślin żywicielskich. Wykazano także, iż warunki termiczne mają wpływ na parametry wzrostu (długość, szerokość) i masę ciała, jak również na szybkość poruszania się nicieni.

W dostępnej literaturze brak jest natomiast badań, które łączyłyby mechanizm molekularnej odpowiedzi komórki z fizjologiczną odpowiedzią całego organizmu na stres termiczny. Reakcją organizmu na stres termiczny w obrębie komórki jest m. in. wzrost ekspresji genów szoku termicznego (tzw. genów *hsp*). Geny *hsp* są powszechnie obecne w genomach organizmów, występują od bakterii aż po organizm ludzki i odpowiadają za wytworzenie białek szoku termicznego (tzw. białek Hsp). Białka Hsp spełniają w komórce m.in. funkcję ochronną, która polega na wyciszeniu lub osłabianiu efektów działania m.in. stresu termicznego. Wzmożenie syntezy białek Hsp prowadzi do obniżenia zagrożenia uszkodzeniem komórek podczas stresu i/lub wspomaga ich regenerację. Większość sekwencji genów *hsp*, które stwierdzono u nicieni, uzyskano w trakcie badań z wykorzystaniem wolnożyjącego modelowego nicienia *Caenorhabditis elegans*. W genomie guzaka północnego opisano dotąd jedynie sekwencję genu *hsp-90*, który koduje białko z rodziny Hsp90 i porównano poziom jej zmienności w dwóch populacjach. Pozostałe geny *hsp*, kodujące białka należące do rodzin Hsp100, Hsp70, Hsp60, Hsp40 oraz tzw. niskocząsteczkowe Hsps, nie były wcześniej badane u nicieni żerujących na roślinach. Planowane badania będą dotyczyły wybranych genów *hsp* (*hsp-90* - opisano jedynie sekwencję, *hsp-1*, *hsp-6*, *hsp-110*, *hsp-60*, *dnj-19*, *hsp-12.1*, *hsp-43*) nieopisanych dotychczas u *M. hapla*. Badanie poziomu zmian (profilowanie) transkrypcji tych genów pod wpływem różnych temperatur i czasu ekspozycji prowadzone będzie po raz pierwszy u tego gatunku.

Badania obejmą również nieanalizowany dotychczas u nicieni związek między poziomem ekspresji genów *hsp* a wybranymi parametrami stanu fizjologicznego (kondycji) *M. hapla* pod wpływem zmieniającej się temperatury środowiska. Planowane badania pozwolą odpowiedzieć na pytanie czy istnieje zauważalny wpływ poziomu ekspresji genów *hsp* na rozwój jaja oraz takie parametry kondycji jak wzrost, masa ciała, aktywność ruchowa oraz ilość substancji zapasowych u osobników J2 *M. hapla*. W badaniach wykorzystywane będzie stadium jaja oraz stadium J2, ponieważ te stadia występują poza rośliną żywicielską i są najbardziej narażone na działanie czynników zewnętrznych, w tym temperatury środowiska.

Uzyskane w projekcie wyniki badań będzie można wykorzystać do opracowania metod ograniczenia szkodliwości *M. hapla* w uprawach roślin. Od kilku lat prowadzone są badania nad biotechnologicznymi metodami zwalczania nicieni pasożytów roślin, takimi jak tzw. „wyciszenie” ekspresji genu bezpośrednio w organizmie pasożyta, bądź pośrednio poprzez wprowadzenie zmian w ekspresji genów gospodarza. Wyciszenie genów polega na obniżeniu lub całkowitym zaniku ich ekspresji. W badaniach prowadzonych na nicieniach fitofagicznych wyciszenie genów powodowało m.in. zahamowanie rozwoju komórek olbrzymich, ograniczenie ruchliwości stadium J2 i tym samym jego infekcyjności, a także skutkowało zaburzeniami w zlokalizowaniu korzeni rośliny-gospodarza przez to stadium. Zasadne byłoby, w oparciu o wyniki otrzymane w projekcie, podjęcie badań również nad wyciszeniem genów *hsp* u guzaka północnego. Wyciszenie poszczególnych genów *hsp* może się przyczynić do zmniejszenia możliwości adaptacyjnych *M. hapla*, co może być nowym kierunkiem w zwalczaniu tego pasożyta roślin. Geny *hsp* reagują zwiększoną ekspresją również na różnego rodzaju stresory chemiczne takie jak metale ciężkie, zmiany zasolenia czy pH w glebie. Poznanie reakcji genów *hsp* na etapie transkrypcji, w wyniku działania związków chemicznych, może się przyczynić do otrzymania substancji chemicznych, które skutecznie ograniczałyby liczebność tych pasożytów w uprawach roślin.

Wyniki niniejszego projektu mogą dostarczyć ważnych danych z zakresu badań na genami szoku termicznego u guzaka północnego.