

## Zrozumienie zjawiska supresji ksylogenezy wywołanej u roślin przez patogen *Plasmodiophora brassicae*

*Plasmodiophora brassicae* to pierwotniak, który atakuje rośliny z rodziny kapustowatych. Rozwijająca się w organizmie roślinnym choroba prowadzi do tworzenia się narośli na korzeniach – stąd jej potoczna nazwa „kiła kapusty”. Jednym z charakterystycznych objawów choroby jest również zahamowanie dojrzwania ksylemu - tkanki niezbędnej do dystrybucji wody wraz z substancjami odżywczymi z korzeni do nadziemnych części rośliny. Brak dobrze funkcjonującego ksylemu prowadzi do więdnienia roślin oraz ich śmierci. Walkę z tą chorobą roślin, która jest przyczyną strat ekonomicznych w uprawach wielkoobszarowych rzepaku, prowadzi się na wielu poziomach. Podstawową metodą jest poszukiwanie genetycznych źródeł odporności. Niestety patogen po pewnym czasie uzyskuje zdolności pozwalające mu na infekcję odmian odpornych. Swego rodzaju wzmocnieniem w walce z tym patogenem jest poszukiwanie form tolerancyjnych, które pomimo infekcji potrafią znieść chorobę przez długi czas, co również skutkuje obniżeniem utraty plonu wywołanej przez kiłę kapusty. Poszukiwanie form tolerancyjnych wymaga jednak zrozumienia biologicznych podstaw przebiegu choroby w roślinie. Tym zagadnieniem od wielu lat zajmuje się mój zespół badawczy, który opisał już wiele aspektów związanych z przeprogramowaniem rozwoju rośliny przez *P. brassicae*. Niestety kwestia dotycząca rozwoju ksylemu jest dość trudna do rozszyfrowania. Wynika to między innymi z tego, że proces ten jest koordynowany poprzez wiele równoległych ścieżek a dodatkowo zmiany biochemiczne oraz metaboliczne w sąsiedztwie komórek prekursorowych ksylemu mogą skutkować blokadą różnicowania. Należy tu podkreślić, że w trakcie tworzenia ksylemu komórki tracą swoją zawartość i przechodzą przez etap programowanej śmierci; to skutkuje tym że ksylem to w dużym uproszczeniu z lignifikowane rurki, którymi odbywa się transport. Ze względu na wyżej wymienione kwestie musimy zastosować metodę, dzięki której można uzyskać informacje pozwalające na zrozumienie komórkowego kontekstu zmian zachodzących u tworzących się narośli.

Od kilku lat na świecie wykorzystywana jest metoda sekwencjonowania transkryptów pojedynczych komórek (ang. single cell sequencing), która pozwala poznać unikatowy profil ekspresji każdej komórki, oraz zrozumieć w jakim stanie rozwojowym i fizjologicznym się ona znajduje. Całość metody polega na tym, że izoluje się pojedyncze komórki z organów roślinnych, z nich otrzymuje się RNA, w którym to zapisana jest informacja o tym jakie białka wytworzy komórka, a co za tym idzie jaki będzie jej los. Taka informacja wsparta badaniami dotyczącymi przemian biochemicznych oraz metabolicznych pozwoli na uzyskanie pełnego obrazu zmian następujących w podziemnych częściach roślin porażonych przez pierwotniaka *P. brassicae*. Razem z naukowcami z Finlandii i Belgii przeprowadzimy eksperyment sekwencjonowania transkryptów pojedynczych komórek. Dodatkowo część prac będzie prowadzona wraz z naukowcami z Czech dysponującymi komorą, w której można dokonać automatycznego zapisu zmian dotyczących wzrostu roślin oraz ich kondycji życiowej, a w tym również stanu uwodnienia. Ta ostatnia kwestia jest ściśle związana z rozwojem ksylemu. Po wstępnej interpretacji i syntezie uzyskanych danych przejdziemy do drugiej fazy projektu, której istotą będzie dalsza funkcjonalna weryfikacja. Na podstawie wyżej wymienionych obserwacji wytypujemy, które szlaki regulatorowe i które procesy zaburzają atak patogenu. Następnie, poprzez bezpośrednią wizualizację zmian aktywności oraz akumulacji genów, ich mutacje prowadzące do ich wyłączenia oraz precyzyjną manipulację ich działaniem, dokonamy pełnego opisu mechanizmu leżącego u podstaw indukowanego przez badanego pierwotniaka zaburzenia rozwoju tkanki przewodzącej. Finalnie te informacje wykorzystamy do uzyskania roślin, które w obliczu infekcji przez *P. brassicae* oraz dalszego rozwoju choroby w wysokim stopniu zachowują zdolność do tworzenia ksylemu. Ocenimy tolerancję tych roślin, a co za tym idzie praktyczną możliwość wykorzystania uzyskanej wiedzy do tworzenia w przyszłości roślin tolerancyjnych.