

## Streszczenie

Wpływ poziomu transkrypcji genów *hsp* na kondycję stadium J2 nicienia *Meloidogyne hapla* Chitwood, 1949 w zakresie wybranych temperatur

Nicień (Nematoda) stanowią jeden z najliczniej występujących na Ziemi typów w obrębie królestwa zwierząt. Bytują w prawie każdym nadającym się do życia środowisku na Ziemi, w tym w glebie. Spośród ponad 284 tysięcy znanych gatunków nicieni, około 1,5% stanowią pasożyty roślin. Jedną z grup pasożytów o największej szkodliwości dla roślin uprawnych są gatunki należące do rodzaju *Meloidogyne*. W wyniku żerowania tych pasożytów na korzeniach roślin powstają wyrośla przypominające guzy, dlatego potocznie nazywane są guzaki. Na obszarze Europy, w tym na terenie Polski reprezentuje je guzak północny *Meloidogyne hapla*, szkodnik wielu upraw roślin dwuliściennych. Nicienie ten jest groźnym pasożytem nie tylko ze względu na żerowanie na wielu gatunkach roślin uprawnych, ale także na możliwość przetrwania w glebie w niskich temperaturach w okresie zimowym. Szczególnie istotne dla przetrwania tego gatunku są stadium jaja, które zimuje w glebie, oraz wylęgające się z tych jaj osobniki stadium inwazyjnego J2, które porażają z początkiem okresu wegetacyjnego nowe rośliny zachowując tym samym ciągłość populacji. Poza rośliną żywicielską rozwój oraz aktywność guzaków zależą od czynników otaczającego środowiska, w tym od działania temperatury. Na *M. hapla* i innych gatunkach z rodzaju *Meloidogyne* przeprowadzono wiele badań dotyczących wpływu temperatury, w tym na rozwój stadium jaja i osobników w stadium J2, wymiary i masę ciała osobników w stadium J2, zawartość lipidów w organizmie stadium J2 czy aktywność ruchową tego stadium, ale tylko nieliczne z nich dotyczyły ekspresji genów szoku termicznego (genów *hsp*).

Celem pracy było zbadanie reakcji organizmu nicienia *M. hapla* na zmiany temperatury środowiska zewnętrznego. Badania przeprowadzono na nicieniach tego gatunku pozyskanych z gleby na obszarze Polski. Cel realizowano poprzez wykonanie kompleksowych badań na poziomie molekularnym i fizjologicznym (odpowiedź całego organizmu) w stadium jaja i u osobników stadium J2, po inkubacji w wybranych temperaturach i czasie. Oba stadia inkubowano w temperaturach stresowych 5°C (stres zimna), 35°C i 40°C (stres gorąca) oraz niestresowych 10°C, 20°C i 30°C, w czasie 1, 2, 8 i 24 godzin, a osobniki J2 inkubowano dodatkowo przez 336, 1008 i 1344 godziny. Po raz pierwszy u tego gatunku przeprowadzono badania wpływu stresu zimna i gorąca na poziom transkrypcji (ekspresji) genów *Mh-hsp90*, *Mh-hsp1*, *Mh-hsp4*, *Mh-hsp6*, *Mh-*

*dnj19*, *Mh-hsp43* i *Mh-hsp12.2* w stadium jaja i stadium J2, jak również badania stanu fizjologicznego (długość, szerokość, masa ciała, masa i powierzchnia wybarwionych lipidów) oraz aktywności ruchowej osobników stadium J2. Po raz pierwszy u *M. hapla* badano także parametry – długości, szerokości i masy ciała mierzone u osobników J2, które wylęgły się z jaj inkubowanych w ww. warunkach temperatury i czasu inkubacji.

Wykonane badania w kompleksowy sposób pokazują reakcję obu stadiów rozwojowych *M. hapla* na działanie wybranych temperatur. Temperatura stresowa 40°C okazała się letalna dla stadium jaja, natomiast osobniki J2 w zależności od czasu ekspozycji nie przeżyły inkubacji w temperaturach 35°C i 40°C. Badania genów *hsp* wykazały ich zróżnicowaną reakcję na temperatury stresowe. Spośród ośmiu badanych genów tylko dwa (*Mh-hsp60* i *Mh-dnj19*) reagowały wzrostem ekspresji na stres gorąca i zimna w obu stadiach rozwojowych. Na stres gorąca reagowało więcej genów *hsp*, a ich ekspresja była wyższa niż na działanie stresu zimna. Wzrost ekspresji większości genów *hsp* podczas inkubacji w temperaturach stresowych był wyższy u osobników J2 niż w stadium jaja. Uzyskane wyniki sugerują, że geny *Mh-hsp90* i *Mh-hsp1* mogą być stosowane jako bioindykatory wpływu środowiska zewnętrznego na organizm nicieni z rodzaju *Meloidogyne*. Ponadto wykazano, że z jaj inkubowanych w temperaturach stresowych wylęgają się osobniki stadium J2, których średnie wartości parametrów stanu fizjologicznego są niższe od parametrów osobników J2 wylęgniętych w temperaturach niestresowych. W badaniach osobników stadium J2 wykazano zależność wartości mierzonych parametrów stanu fizjologicznego od temperatury i czasu inkubacji tych nicieni. Temperatury stresowe 35°C i 40°C, wraz z wydłużaniem czasu inkubacji, istotnie wpływają na obniżanie wartości badanych parametrów. Badania aktywności ruchowej dowiodły także, że temperatury stresowe 5°C i 35°C ograniczają aktywność ruchową osobników stadium J2 oraz powodują jej brak w temperaturze 40°C.

Przeprowadzone badania ekspresji genów *hsp*, parametrów stanu fizjologicznego oraz aktywności ruchowej potwierdziły, że optymalnymi temperaturami do rozwoju nicienia *M. hapla* pochodzącego z gleb strefy klimatu umiarkowanego są temperatury w przedziale od 20°C do 30°C.