

Najbardziej niebezpiecznym patogenem lnu jest *Fusarium oxysporum* sp. *linii* (Foln), który powoduje fuzaryjne wędnięcie lnu. Ta groźna choroba lnu może spowodować nawet 20% straty w jego uprawie. Wyniki naszych badań wstępnych pokazują, że niepatogeny szczep *F. oxysporum* (Fo47), który jest powszechnie znanym endofitem, kolonizuje len nie powodując objawów chorobowych, a także ogranicza rozprzestrzenianie się patogennego szczepu *F. oxysporum* w lnie, tym samym redukuje objawy chorobowe. Len uczulany niepatogenym szczepem jest bardziej odporny na infekcje szczepem patogennym. Ponadto wykazaliśmy, że niepatogeny szczep *F. oxysporum* kolonizuje nie tylko korzenie lnu, ale także jego pędy nadziemne. Informacja ta jest ważna z tego powodu, gdyż wcześniejsze doniesienia wskazywały, że endofit Fo47 kolonizuje głównie korzenie roślin i nie przedostaje się do pędów nadziemnych. Dotychczasowe badania dotyczące interakcji lnu i Fo47 skupiały się wyłącznie na molekularnych mechanizmach odpowiedzi roślin w badanym układzie. Jednak nadal niewiele wiemy o mechanizmach molekularnych leżących u podstaw funkcjonowania endofitycznego Fo47. Nie wiemy, jakie białka grzybów są kluczowe w kolonizacji roślin (w naszym przypadku lnu) przez niepatogeny szczep *F. oxysporum*. Nie wiemy dlaczego Fo47 kolonizuje pędy nadziemne lnu. Nie wiemy, które białka Fo47 inicjują uczulenie lnu i jaki jest mechanizm ich działania. Nie wiemy, w jaki sposób regulowana jest ekspresja genów kodujących białka wydzielane przez szczepy grzybów o różnej patogeniczności i odpowiedzialne za kolonizację i uczulenie roślin.

Celem tego projektu jest poznanie molekularnych mechanizmów działania niepatogenego *F. oxysporum* (w interakcji lnu i Fo47) w procesach kolonizacji i uczulania lnu. Ze względu na złożoność tych procesów w projekcie skupimy się na jednej grupie białek, która może odgrywać w nich kluczową rolę. Są to enzymy degradujące polimery ściany komórkowej roślin, których działanie ułatwia penetrację tkanek roślinnych, dostarcza wolne glikany wykorzystywane przez grzyba jako źródło energii lub elementy budulcowe i jednocześnie uwalnia elitory aktywujące szlaki odpowiedzi obronnej roślin. Zarówno niepatogenne, jak i patogenne szczepy grzybów wydzielają enzymy degradujące polimery ściany komórkowej roślin, ale kolonizacja roślin przez te dwa szczepy różni się, co może wynikać z odmiennej ekspresji genów tych białek. Dlatego równie ważne jest ustalenie, jakie mechanizmy odpowiadają za regulację ekspresji tych genów. W trakcie projektu odpowiemy na dwa ważne pytania: Czy i które białka grzybowe rozkładające polimery ściany komórkowej roślin są odpowiedzialne za kolonizację korzeni i pędów lnu przez niepatogeny szczep *F. oxysporum* oraz czy te same białka aktywują proces uczulania lnu? Czy mechanizmy epigenetycznej regulacji genów kodujących białka degradujące polimery ścian komórkowych roślin są odpowiedzialne za różnice w kolonizacji korzeni i pędów nadziemnych lnu przez Fo47 i Foln?

Realizacja projektu będzie obejmowała następujące etapy. Pierwszym etapem będzie identyfikacja celów molekularnych do modyfikacji Fo47. Zostanie wykonana analiza porównawcza transkryptomu grzybów Fo47 i Foln z lnu traktowanego tymi grzybami, na podstawie której wybrane zostaną różnicujące transkrypty. Następnie porównane zostaną promotory tych genów, aby sprawdzić czy ich różna ekspresja może wynikać z różnych sekwencji promotorowych. W drugim etapie przygotowane zostaną konstrukty genowe do wyciszania wybranych genów, a następnie wytworzone transgeniczne grzyby Fo47 cechujące się wyciszonymi genami. Kolejno, w trzecim etapie transgeniczne grzyby o zmienionych właściwościach wykorzystane zostaną do określenia funkcji wybranych białek w procesie kolonizacji i uczulania. Rośliny lnu będą traktowane grzybami, a następnie w wielu różnych punktach czasowych będziemy monitorować postęp kolonizacji m. in. przez obserwacje makroskopowe i mikroskopowe oraz zawartość materiału genetycznego grzybów. Ostatnim etapem będzie sprawdzenie czy mechanizmy epigenetyczne (metylacja DNA, metylacja i acetylacja histonów, miRNA) regulują ekspresję wybranych genów w niepatogenym i patogennym szczepie *F. oxysporum*.

Efektom realizacji projektu będzie poznanie roli grzybowych białek degradujących polimery ściany komórkowej lnu w procesie kolonizacji i uczulania przez niepatogeny szczep *F. oxysporum*. W przyszłości ta wszechstronna wiedza na temat interakcji lnu-Fo47 przyczyni się do świadomego wykorzystania Fo47 jako potencjalnego środka biokontroli zwiększającego odporność lnu na infekcje wywołane patogennym szczepem *F. oxysporum* w uprawach polowych.