2. Streszczenie

Grzyby *Fusarium* są jednymi z najpowszechniej występujących patogenów roślin, wywołując szereg istotnych chorób. Wytwarzają one różne metabolity wtórne, wśród których mykotoksyny oraz zewnątrzkomórkowe enzymy lityczne przyczyniają się do osłabienia i skutecznego zainfekowania rośliny gospodarza. Głównym celem badań była analiza wpływu ekstraktów z roślin grochu na aktywność enzymów litycznych i biosyntezę mykotoksyn wytwarzanych przez grzyby *Fusasrium* w warunkach *in vitro* oraz *in vivo*, jak również zrozumienie efektu wywieranego przez metabolity obecne w ekstraktach z roślin grochu na wzrost i metabolizm szczepów *Fusarium*.

Do analiz aktywności enzymatycznych wybraliśmy podatną na infekcje grzybowe odmianę grochu (Santana) oraz odmianę odporną (Sokolik), a otrzymane z nich ekstrakty wykorzystano do indukcji enzymów litycznych, wraz z innymi źródłami węgla, takimi jak glukoza, pektyna oraz otręby owsiane. Szczepy *Fusarium* wybrano na podstawie ilości wytwarzanych mykotoksyn i były to dwa szczepy *F. proliferatum* (PEA1 i PEA2) produkujące duże ilości fumonizyn oraz dwa szczepy *F. oxysporum* (34 OX i 1757 OX) produkujące więcej bowerycyny niż inne szczepy.

Aktywności enzymów degradujących ścianę komórkową, takich jak poligalakturonaza, liaza pektynowa, ksylanaza, celulaza, chitynaza, lipaza i proteaza, były analizowane dla czterech szczepów *Fusarium*. Ekstrakty grochowe dodane do kultur płynnych indukowały wyższą aktywność β-glukozydazy, liazy pektynowej i ksylanazy. Jednakże, testy infekcyjne wykazały wyższą aktywność enzymów, niż w kulturach *in vitro*, a skład enzymów zależał od szczepów użytych do inokulacji oraz poziomu odporności rośliny gospodarza.

Analizy ekspresji genów wykazały, że ekstrakt z odmiany Santana indukował ekspresję genów kodujących enzymy lityczne we wszystkich badanych szczepach zaraz po jego dodaniu do hodowli. Ekstrakt z odpornej odmiany Sokolik powodował obniżoną ekspresję, która z czasem rosła. Zgodnie z tym profil biochemiczny rośliny gospodarza odgrywa ważną rolę w regulacji ekspresji genów patogenów.

Podobnie, biosynteza mykotoksyn zależy w dużym stopniu od profile metabolicznego rośliny gospodarza. W kolejnych analizach stwierdzono, że ekstrakty z odpornej (Sokolik) i podatnej (Santana) odmiany grochu zmieniały poziom wytwarzanych mykotoksyn i ograniczały wzrost grzybni. Większa odporność na infekcję odmiany Sokolik może wynikać z podwyższonego poziomu metabolitów wtórnych, takich jak flawonoidy i związki fenolowe, zidentyfikowane podczas profilowania metabolitów. Co więcej, wyższe stężenie metabolitów wtórnych obecnych w ekstraktach

grochowych ograniczało wzrost grzybni szczepów *Fusarium* oraz hamowało wytwarzanie mykotoksyn, takich jak fumonizyny i bowerycyna. Spośród badanych metabolitów najbardziej skuteczną inhibicją syntezy FB_1 wykazały się: kwas p-kumarynowy>kwas chlorogenowy>spermidyna>kumaryna. Dodatkowo, wszystkie metabolity hamowały syntezę bowerycyny przez wszystkie cztery badane szczepy.

Doświadczenia infekcyjne z roślinami grochu wykazały, że odporna odmiana Sokolik akumuluje bardzo mało mykotoksyn albo nie akumuluje ich wcale, podczas gdy odmiana podatna Santana akumuluje większe ilości toksyn. Jako przyczyna fuzaryjnego więdnięcia grochu, szczepy *F. oxysporum* 34 OX i 1757 OX okazały się bardziej patogeniczne niż szczepy *F. proliferatum*.