

Zadanie: Ocena interakcji ziemniaka z bakteriami *Dickeya solani* na poziomie fenotypowym i molekularnym - identyfikacja genów kandydujących związanych z reakcją odporności

Nr 28, BH 3-1-00-3-04

Kierownik tematu: dr hab. Renata Lebecka, IHAR - PIB, Oddział Młochów

Cel projektu: (a) zdobycie wiedzy na temat molekularnych uwarunkowań uszkodzenia bulw ziemniaka na skutek zranienia oraz zranienia i zakażenia przez bakterie *D. Solani*, we wczesnej i średniej fazie infekcji, tj. 8 h i 24 h po inokulacji, (b) poznanie wpływu glikoalkaloidów w ekstraktach z liści w wybranych genotypach rodzaju *Solanum* na wzrost bakterii pektynolitycznych, (c) wyizolowanych z liści wybranych genotypów *Solanum* spp. na wybrane czynniki wirulencji bakterii *D. solani* (Ds) i *P. Brasiliense* (Pcb): quorum sensing, enzymatyczną zdolność rozkładania pektyn w pożywce, zdolność ruchu i tworzenie biofilmu, (d) zdobycie wiedzy na temat możliwości określenia zdolności przechowalniczej bulw ziemniaka i porażenia przez patogeny ziemniaka powodujące choroby przechowalnicze na podstawie testu przechowywania wybranej próby bulw w warunkach prowokacyjnych do rozwoju patogenów.

W 2023 r. wykonano następujące tematy badawcze:

(a) Analiza transkryptomyczna w bulwach w średniej fazie rozwoju infekcji, tj. 24 h po zakażeniu przez *D. solani*. Badania ekspresji wybranych genów różnicowych wczesnej fazy rozwoju infekcji tj. 8 h po zakażeniu przez bakterie w pojedynczych genotypach odpornych i podatnych ok. kilunastu genów metodą PCR. Materiał poddany sekwencjonowaniu pochodził z prób całkowitego RNA izolowanego z bulw ziemniaka 24 h po inokulacji, z bulw genotypów z populacji mapującej, odpornych lub podatnych na bakterie Ds. Bulwy inokulowano w zranienia, zranione „inokulowano” wodą oraz nietraktowano. Profil ekspresji genów pomiędzy próbkami, różnił się pomiędzy bulwami niezranionymi a bulwami poddanymi zranieniu lub inokulowanym w zranienie. Pierwsza składowa analizy wyjaśniała 77 % ogólnej zmienności. Druga składowa, wyjaśniająca 15 % wariacji pozwoliła na oddzielenie grupy genotypów odpornych od podatnych. Wyznaczono identyfikatory ontologii genów, które były nadreprezentowane w zbiorze genów różnicujących dla każdego z analizowanych porównań. Wytypowano geny kandydujące, których ekspresja może mieć związek z wyższą odpornością bulw ziemniaka na bakterie Ds. Potwierdzono wyższą ekspresję genów kandydujących 8 h po inokulacji w pojedynczych genotypach odpornych na bakterie Ds. Były to: białka błonowe indukowane infekcją, białka związane z patogenezą (PR), geny odporności typu R, białko potranslacyjnej ubikwitynacji, białko podobne do czynnika transkrypcyjnego 5 GATA, enzymy peroksydazy związane z suberynizacją i lignifikacją.

(b) Ocena wpływu glikoalkaloidów (GA) z liści roślin wyselekcjonowanych spośród genotypów *Solanum* na czynniki wirulencji bakterii *D. solani* i *P. brasiliense*: quorum sensing, enzymatyczną zdolność rozkładania pektyn w pożywce, zdolność ruchu i tworzenie biofilmu. GA z różnych źródeł mogą modulować system QS u bakterii patogennych w różny sposób. GA złożone z czakoniny i solaniny izolowane z *S. chacoense* oraz odmiany Tajfun wykazywały działanie inhibitorowe na ekspresję genów QS w Ds i Pcb, najsilniejsze w przypadku genu *vfmE*. GA z mieszańca międzygatunkowego *Solanum* - DG 00-683, złożone z czakoniny, solaniny i leptyniny I, w Pcb indukowały ekspresję genu syntazy AHL *expI* - hamując jednocześnie ekspresję genu białka receptorowego *expR* a w Ds - odwrotnie. GA z mieszańca DG 00-683 indukowały ekspresję badanych genów *vfm* w Ds. Wyniki wskazują na złożoną interakcję pomiędzy GA a systemem/systemami QS bakterii, podkreślając potencjał GA jako naturalnych inhibitorów komunikacji bakteryjnej. GA hamowały istotnie enzymatyczną zdolność rozkładania pektyn w pożywce i tworzenie biofilmu w Ds i Pcb. Nie stwierdzono wpływu GA na zdolność ruchu bakterii.

(c) Analiza zdolności przechowalniczej bulw ziemniaka i porażenia przez patogeny ziemniaka powodujące choroby przechowalnicze. III rok badań.

Po ciepłym i suchym lecie obserwowano silne porażenie odmian ziemniaka parchem zwykłym i ospowatością bulw. Obserwowano różnice występowania tych chorób w zależności od miejsca uprawy, sposobu zbioru i odmiany ziemniaka. Zaraza ziemniaka nie wystąpiła. W bulwach przechowywanych w warunkach hot-box'u obserwowano suchą zgniliznę i porażenie bulw przez bakterie pektynolityczne. W przypadku 8 odmian, w których stwierdzono obecność bakterii wywołujących mokrą zgniliznę, zaleca się obserwowanie przechowywanych bulw pod względem wystąpienia objawów choroby.