

Analiza zmienności genów kluczowych w interakcji ziemniaka i *Phytophthora infestans* (DivGene)

Phytophthora infestans jest to grzybopodobny organizm, który powoduje zarazę ziemniaka. Ta bardzo groźna choroba ziemniaka i pomidora występuje na całym świecie, i przy chłodnej i wilgotnej pogodzie może doprowadzić do całkowitej utraty plonu. Jest to najważniejsza pod względem ekonomicznym choroba ziemniaka, który z kolei jest czwartą najważniejszą rośliną uprawną na świecie. Obecnie choroba ta jest zwalczana przy użyciu kosztownych i szkodliwych dla środowiska środków chemicznych. Zapewnienie pełnej ochrony uprawy przed zarazą ziemniaka może wymagać nawet 20 zabiegów ochronnych w trakcie sezonu wegetacyjnego. Każda aplikacja pestycydu nie tylko bezpośrednio zanieczyszcza powietrze, glebę i wody, ale także przyczynia się do wzrostu śladu węglowego uprawy ziemniaka. Alternatywnym, przyjaznym dla środowiska rozwiązaniem byłaby uprawa odpornych na zarazę odmian ziemniaka. Jak dotąd, opisano ok. 60 genów odporności na *P. infestans*, pochodzących głównie z dzikich gatunków spokrewnionych z ziemniakiem. Niektóre z tych genów wprowadzono do odmian ziemniaka, ale wkrótce po tym, jak uprawy takich odpornych odmian osiągnęły duże arealy, pojawiły się nowe szczepy patogenu, które były zdolne do przełamania odporności. Uzyskanie pierwszych odpornych na zarazę odmian ziemniaka nastąpiło przed zdobyciem szczegółowej wiedzy na temat warunkujących odporność genów i wciąż brakuje nam wiedzy o tym, jakie geny odporności znajdują się w popularnych odmianach i liniach hodowlanych ziemniaka. Nowe technologie sekwencjonowania pozwalają na jednoczesne sekwencjonowanie licznych genów pełnej długości z licznych próbek organizmów nawet poliploidalnych, takich jak ziemniak w jednej reakcji. Wykorzystaliśmy taką technologię w projekcie DivGene, by uzyskać wiedzę na temat zarówno genów odporności ziemniaka, jak i genów kodujących efekторы *P. infestans*, które są kluczowe dla przebiegu interakcji patogenu z gospodarzem.

W doświadczeniu pilotażowym, przetestowaliśmy to podejście badawcze sekwencjonując gen *Ry_{sto}* pochodzący z dzikiego krewnego ziemniaka, *Solanum stoloniferum* i warunkujący odporność na PVY oraz gen *Rpi-vnt1* (*Rpi-phu1*) z *S. phureja*, który warunkuje odporność na *P. infestans*. Obecność i zróżnicowanie sekwencji DNA genu *Ry_{sto}* zostały zbadane w grupie dzikich gatunków ziemniaka (298 genotypów reprezentujących 29 obiektów kolekcyjnych of 26 tworzących bulwy gatunków *Solanum*). Zidentyfikowano łącznie 55 unikatowych sekwencji *Rysto-like* w 72 genotypach należących do 12 obiektów kolekcyjnych 10 gatunków *Solanum* oraz w sześciu odpornych kontrolach. Następnie zsekwencjonowaliśmy 10 genów odporności na zarazę ziemniaka w zestawie 335 odmian ziemniaka, linii hodowlanych i dzikich krewnych z Polski i Norwegii. Podobne podejście zastosowano, by zbadać zmienność sekwencji genów kodujących efekторы patogenu u 394 izolatów *P. infestans*, głównie z Norwegii i Polski. Wysoce polimorficzne, ko-dominujące markery typu simple sequence repeats (SSR) zostały użyte do określenia struktury genetycznej testowanych prób populacji ziemniaka i *P. infestans*. W doświadczeniach *in vivo*, zweryfikowaliśmy wyniki sekwencjonowania testując fenotypy gospodarza i patogenu oraz ekspresję wybranych genów.

Głównym celem projektu DivGene było rozszerzenie wiedzy na temat chorób roślin i czynników wpływających na odporność lub podatność na patogeny. W ramach projektu, rozwinięto metody sekwencjonowania genów odporności ziemniaka i genów kodujących efekторы *P. infestans*. Geny warunkujące odporność roślin na choroby są szczególnie istotne z punktu widzenia hodowli odmian. Spodziewamy się, że wyniki projektu DivGene wywrą duży wpływ na rozwój dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo, zważywszy na dużą liczbę badaczy pracujących na tym samym modelowym patosystemie. Opracowane metody badawcze mogą zostać rozszerzone na inne geny, np. geny patogenu warunkujące odporność na pestycydy, a po pewnej adaptacji także na inne patosystemy. Opracowane w ramach projektu narzędzia bioinformatyczne mogą znaleźć szerokie zastosowanie.

Publikacje:

1. Paluchowska P., Śliwka J., Yin, Z. 2022. Late blight resistance genes in potato breeding. *Planta* 255, 127 <https://doi.org/10.1007/s00425-022-03910-6>

2. Paluchowska P, Lim Rossmann S, Lysøe E, Janiszewska M, Michalak K, Heydarnajad Giglou R, Torabi Giglou M, Brurberg MB, Śliwka J, Yin Z. Diversity of the *Ry_{sto}* gene conferring resistance to potato virus Y in wild relatives of potato. *BMC Plant Biol* 24, 375 (2024). <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05089-2>
3. Ludwiczewska, M., Janiszewska, M., Yin, Z., Śliwka J. Populations of *Phytophthora infestans* in northern and eastern Europe. *Eur J Plant Pathol* (2024). <https://doi.org/10.1007/s10658-024-02933-x>