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 fazie infekcji, tj. 8 h po inokulacji, (b) poznanie wpływu glikoalkaloidów w ekstraktach z liści w wybranych genotypach rodzaju *Solanum* na wzrost bakterii pektynolitycznych, (c) poznanie wpływu glikoalkaloidów w ekstraktach z liści w wybranych genotypach rodzaju *Solanum* na żywotność bakterii pektynolitycznych, (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 2022 r. wykonano następujące tematy badawcze:

1. **Analiza transkryptomiczna i walidacja prób do badania ekspresji wybranych genów
w bulwach we wczesnej fazie rozwoju infekcji po zakażeniu przez *D. solani.* Izolacja RNA próbek pobranych w średniej i późnej fazie infekcji.** Materiał poddany sekwencjonowaniu pochodził z prób całkowitego RNA izolowanego z bulw ziemniaka z wczesnej fazy infekcji. Próby zbiorcze składały się
z RNA wyizolowanego z bulw genotypów z populacji mapującej, odpornych lub podatnych na bakterie
*D. solani*. Testowano próby inokulowane w zranienia, zranione „inokulowane” wodą oraz niezranione. Profil ekspresji genów pomiędzy próbami, różnił się pomiędzy bulwami niezranionymi a bulwami poddanymi zranieniu lub inokulowanymi w zranienie. Pierwsza składowa analizy wyjaśniała 77 % ogólnej zmienności. Analiza pozwoliła na oddzielenie grupy genotypów odpornych od podatnych, na podstawie drugiej składowej, wyjaśniającej 15 % wariancji. Wyznaczono identyfikatory ontologii genów GO (ang. Gene Ontology), 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 *D. solani*. Będą one badane pod względem ekspresji
w pojedynczych genotypach odpornych i podatnych na te bakterie.

**(b) Ocena wpływu glikoalkaloidów (GLA) w ekstraktach z liści roślin w wybranych genotypach rodzaju *Solanum* na wzrost bakterii *D. solani* i *P. brasiliense.***

Namnażanie bakterii było hamowane przez wszystkie testowane GLA, w obu testowanych pożywkach, pełnej i minimalnej. Najsilniejsze hamowanie bakterii obu gatunków w pożywce pełnej (LB, ang Luria Berthani) zaobserwowano w przypadku GLA izolowanych z liści *S. maglia*, DG 00-683 i odmiany Tajfun. *S. maglia* i odmiana Tajfun charakteryzowały się wysoką zawartością α-chakoniny i α-solaniny, w równych proporcjach. GLA w międzygatunkowym mieszańcu DG 00-683 oprócz α-chakoniny i α-solaniny zawierał leptyninę I. Zarówno skład GLA w ekstrakcie, jak i ich wzajemne proporcje mogą wpływać na aktywność biologiczną ekstraktu względem bakterii pektynolitycznych.

**(c) Ocena wpływu glikoalkaloidów w ekstraktach z liści roślin w wybranych genotypach rodzaju *Solanum* na żywotność bakterii.**

Żywotność bakterii oznaczono metodą cytometrii przepływowej po inkubacji bakterii w pożywce bez dodatku, lub z dodatkiem GLA. Wszystkie testowane GLA obniżały żywotność bakterii. Siła tego oddziaływania zależała od pochodzenia GLA, gatunku bakterii oraz rodzaju pożywki. W dalszych badaniach planujemy ocenić wpływ GLA na czynniki wirulencji bakterii, aktywność pektynolityczną
i aktywność genów wirulencji.

**(e) Analiza zdolności przechowalniczej bulw ziemniaka i porażenia przez patogeny ziemniaka powodujące choroby przechowalnicze. II rok badań.**

W warunkach ciepłego i suchego lata 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. W tym roku zaraza ziemniaka nie wystąpiła.
W bulwach przechowywanych w warunkach hot-box’u obserwowano występowanie suchej zgnilizny. Poza tym inkubacja bulw w cieple i wilgoci pozwoliła na wykrycie latentnego porażenia 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.