

Sprawozdanie z Zadania na rzecz Postępu Biologicznego w Produkcji Roślinnej za rok 2022

Badanie zróżnicowania interakcji ziemniak-*Phytophthora infestans* podczas reakcji odpornościowej bulw genotypów ziemniaka posiadających wybrane geny R



Nr Zadania: 30; Nr zadanie w IHAR-PIB: 3-1-00-3-06

Okres realizacji projektu: 2021 - 2026

Kierownik Zadania: dr Jarosław Plich (j.plich@ihar.edu.pl)

Zespół wykonawców w 2022 roku:

Jarosław Plich, Beata Tatarowska, Dorota Milczarek, Mirosława Łukasiewicz, Irena Bazylak, Małgorzata Słomska, Kamila Tkaczyk

Cele projektu na 2022 rok

1. Utrzymywanie i namnażanie materiału roślinnego do badań oraz przeprowadzenie testu odporności listków i plastrów bulw wybranych odmian/klonów ziemniaka przy wykorzystaniu izolatów *P. infestans* o określonych profilach wirulencji.
Cel zrealizowano
2. Zabezpieczenie materiału badawczego do analizy ekspresji wybranych genów R w liściach badanych klonów/odmian ziemniaka oraz określenie relatywnego poziomu ekspresji tych genów dla wybranych obiektów w dwóch punktach czasowych.
Cel zrealizowano
3. Uzyskanie i zabezpieczenie materiału badawczego do analizy ekspresji wybranych genów R w bulwach badanych klonów/odmian ziemniaka (metoda RT qPCR) oraz uzyskanie i zabezpieczenie materiału badawczego do przeprowadzenia różnicowej analizy ekspresji genów w wybranych formach ziemniaka (metoda RNA-seq).
Cel zrealizowano

Materiał i metody

Temat badawczy 1

a) Materiał: 40 klonów ziemniaka pochodzących z krzyżowania donorów genów *R2/R2-like* i *Rpi-phu1*; 11 testerów Black'a; 26 klonów/odmian ziemniaka; 2 izolaty *P. infestans* o różnym profilu wirulencji

b) Metody: fenotypowa ocena odporności naci (test listkowy) i bulw (test plastrowy) badanych form ziemniaka

Temat badawczy 2

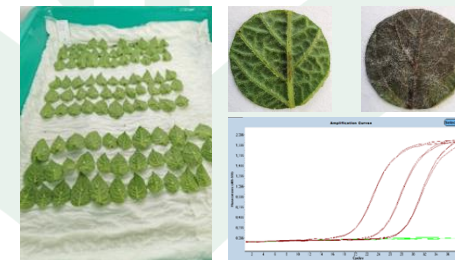
a) Materiał: rośliny 3 odmian ziemniaka będące donorami genów *R2/R2-like* i *Rpi-phu1* inokulowane wybranymi izolatami *P. infestans*

b) Metody: zmodyfikowany test listkowy; zabezpieczenie tkanki roślinnej do dalszych badań; wstępna ocena poziomu relatywnej ekspresji genów *R2/R2-like* i *Rpi-phu1* dla wybranych genotypów ziemniaka w wybranych punktach czasowych

Temat badawczy 3

a) Materiał: plastry bulw 3 odmian ziemniaka będących donorami genów *R2/R2-like* i *Rpi-phu1* inokulowane wybranymi izolatami *P. infestans*

b) Metody: zmodyfikowany test plastrowy, zabezpieczenie tkanki bulw RT-qPCR i RNA-seq



Wyniki i wnioski

Temat badawczy 1

- Testy listkowe

- Potwierdzenie profilu wirulencji wytypowanych izolatów *P. infestans*:

- Izolat 213/20 wirulentny w stosunku do genu *R2/R2-like*, awirulentny w stosunku do genu *Rpi-phu1*
- Izolat MP 324x awirulentny w stosunku do genu *R2/R2-like*, wirulentny w stosunku do genu *Rpi-phu1*
- Izolat MP 1480 (wzorzec) awirulentny w stosunku do obu genów *R2/R2-like* i *Rpi-phu1*

- Weryfikacja efektywności badanych genów w warunkowaniu odporności naci:

- Bzura (i klony posiadające *R2/R2-like*): odporne na MP 324x i MP 1480, podatne na 213/20
- Gardena, TG 97-411 (i klony posiadające *Rpi-phu1*): odporne na 213/20 i MP 1480, podatne na MP 324x
- Klony posiadające *R2/R2-like* i *Rpi-phu1*: odporne na trzy izolaty

- Testy plastrowe

- Weryfikacja efektywności badanych genów w warunkowaniu odporności bulw:

- Bzura (i klony posiadające *R2/R2-like*): podatne na 213/20, MP 324x, średnio podatne na MP 1480
- Gardena: podatna na trzy izolaty
- TG 97-411 (i klony posiadające *Rpi-phu1*): podatne na MP 324x i 213/20, wysoka odporność na MP 1480
- Klony posiadające *R2/R2-like* i *Rpi-phu1*: średnio odporne na MP 324x i 213/20, wysoka odporność na MP 1480

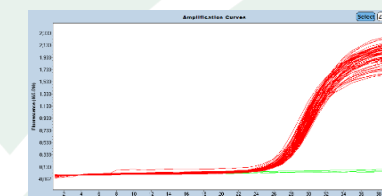
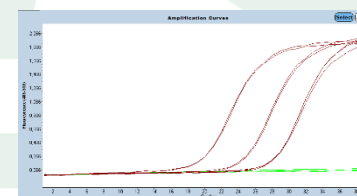
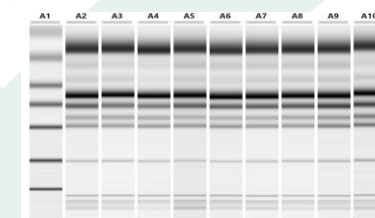
Po inokulacji kompatybilnym izolatem *P. infestans*

- *R2/R2-like*: liście – bardzo wysoki poziom odporności; bulwy – podatne
- *Rpi-phu1*: liście – bardzo wysoki poziom odporności; bulwy – zróżnicowany poziom odporności

Wyniki i wnioski

Temat badawczy 2

- Zabezpieczenie materiału:
 - Zmodyfikowane testy listkowe;
 - Pobranie tkanki liściowej w 5 punktach czasowych po inokulacji
 - Zamrożenie w ciekłym azocie i przetrzymywanie w temp. -80°C
- Izolacja RNA; kontrola jakości
 - Koncentracja: 1239 – 1665 ng/ μl
 - A269/A289: 18, - 2,3
 - RIS: 5,9 -6,8
- Analizy relatywnego poziomu ekspresji genów R:
 - *Rpi-phu1* - odnotowano spadek poziomu ekspresji genu w terminie 1dpi
 - *R2/R2-like* - odnotowano różnice poziomu ekspresji genu w terminie 1dpi w zależności od użytego izolatu

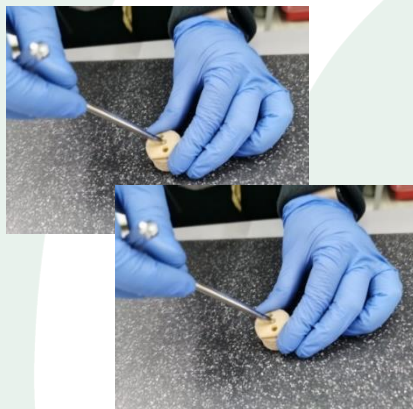


Temat badawczy 3

Wyniki i wnioski

- Zabezpieczenie materiału:

- Zmodyfikowane testy plastrowe (koncentracja 50 000 i 25 000 sporangiów/ml);
- Pobranie tkanki liściowej w 5 punktach czasowych po inokulacji
- Zamrożenie w ciekłym azocie i przetrzymywanie w temp. -80°C



Mierniki na 2022 rok

Lp.	Miernik	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana	Stopień realizacji miernika
temat badawczy 1				
1.1	Liczba klonów/odmian ziemniaka oceniona pod względem odporności naci (test listkowy)	80	80	100%
1.2	Liczba klonów/odmian ziemniaka oceniona pod względem odporności bulw (test plastrowy)	69	69	100%
1.3	Liczba izolatów <i>P. infestans</i> o określonym profilu wirulencji wykorzystanych do badań odporności	2	2	100%
temat badawczy 2				
2.1	Liczba klonów/odmian ziemniaka zabezpieczonych do analizy ekspresji wybranych genów R	15	15	100%
2.2	Liczba punktów czasowych po inokulacji, dla których zabezpieczono materiał do analiza ekspresji genów R klonów/odmian ziemniaka inokulowanych izolatami <i>P. infestans</i> o pożądanym profilu wirulencji	5	5	100%
2.3	Liczba punktów czasowych, dla których przeprowadzona wstępną analizę ekspresji genów R dla wybranych klonów/odmian ziemniaka inokulowanych izolatami <i>P. infestans</i> o pożądanym profilu wirulencji	2	2	100%
temat badawczy 3				
3.1	Liczba klonów/odmian ziemniaka zabezpieczonych do analizy ekspresji wybranych genów R	15	15	100%
3.2	Liczba punktów czasowych po inokulacji, dla których zabezpieczono materiał do analiza ekspresji genów R (RTqPCR) klonów/odmian ziemniaka inokulowanych izolatami <i>P. infestans</i> o pożądanym profilu wirulencji	5	5	100%
3.3	Liczba punktów czasowych po inokulacji, dla których zabezpieczono materiał badawczy do przeprowadzenia różnicowej analizy ekspresji genów w wybranych formach ziemniaka (metoda RNA-seq).	5	5	100%



Radzików
05-870 Błonie
tel. +48 22 733 45 00
NIP: 5290007029
REGON: 000079480
e-mail: postbox@ihar.edu.pl
www.ihar.edu.pl

Jarosław Plich

IHAR-PIB Oddział w Młochowie
Zespół Metodyki Hodowli
tel. +48 22 729 92 48
e-mail: j.plich@ihar.edu.pl