

Sprawozdanie z Zadania na rzecz Postępu Biologicznego w Produkcji Roślinnej za rok 2024

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



Nr Zadania: 30; Nr zadania 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 2024 roku:

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

Cele projektu na 2024 rok

1. Utrzymywanie i namnożenie materiału roślinnego do badań oraz przeprowadzenie oceny odporności wybranych odmian/klonów ziemniaka w teście listkowym i plastrowym przy wykorzystaniu izolatów *P. infestans* o różnym profilu wirulencji oraz określenie profilu wirulencji tych izolatów.
Cel zrealizowano
2. Izolacja RNA oraz ocena relatywnego poziomu ekspresji badanych genów R w bulwach badanych klonów/odmian ziemniaka.
Cel zrealizowano
3. Izolacja RNA oraz przeprowadzenie analizy różnicowej ekspresji genów (sekwencjonowanie transkryptomu metodą RNA-seq).
Cel zrealizowano

Materiał i metody

Temat badawczy 1

a) Materiał: 3 formy rodzicielskie / donory genów R: Bzura, Gardena, TG 97-411; 12 klonów ziemniaka pochodzących z krzyżowania donorów genów *R2/R2-like* i *Rpi-phu1*; 11 testerów Black'a; 9 klonów/odmian ziemniaka; 3 izolaty *P. infestans* o różnym profilu wirulencji

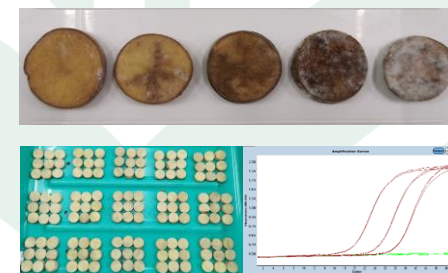
b) Metody: fenotypowa ocena odporności naci (test listkowy) i bulw (test plastrowy)



Temat badawczy 2

a) Materiał: Próbkki tkanki bulw 4 odmian/klonów ziemniaka (Bzura, Gardena, TG 97-411, DC 69) inokulowanych wybranymi izolatami *P. infestans*, zabezpieczone w pięciu punktach czasowych po inokulacji

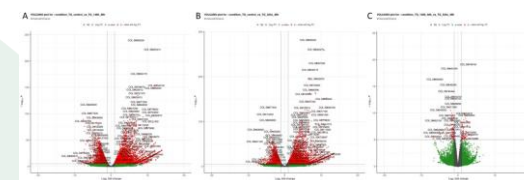
b) Metody: izolacja RNA, transkrypcja na cDNA (reverse transcription), Real Time qPCR, $\Delta\Delta Ct$



Temat badawczy 3

a) Materiał: Próbkki tkanki bulw 3 odmian/klonów ziemniaka: Bzura, TG 97-411 i DC-69, inokulowanych wybranymi izolatami *P. infestans*, zabezpieczone 24 hpi.

b) Metody: izolacja RNA; sekwencjonowanie NovaSeq6000 (Illumina), PE 150, 20 mln par odczytów; obróbka bioinformatyczna i porównanie wyników wg zaplanowanego schematu



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 213/20 i MP 1480, średnio odporne na MP 324x

- Testy plastrowe

- Weryfikacja efektywności badanych genów w warunkowaniu odporności bulw:

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

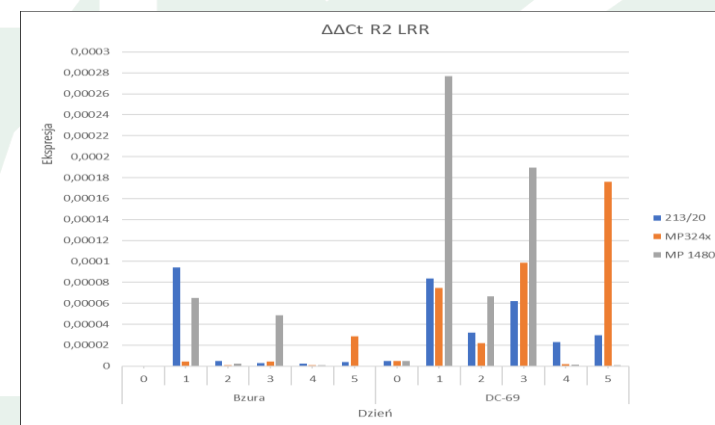
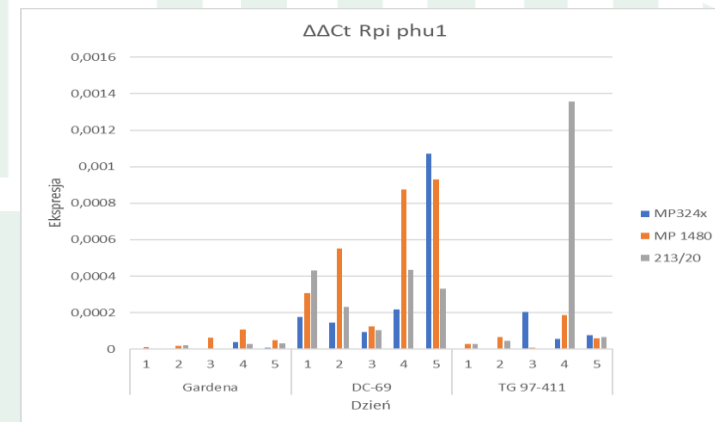
- *R2/R2-like*: liście – bardzo wysoki poziom odporności; bulwy – podatne/średnio podatne
- *Rpi-phu1*: liście – bardzo wysoki poziom odporności; bulwy – bardzo odporne/odporne/średnio odporne

Wyniki i wnioski

Temat badawczy 2

- Ekspresja genu *Rpi-phu1* i *R2/R2-like*:

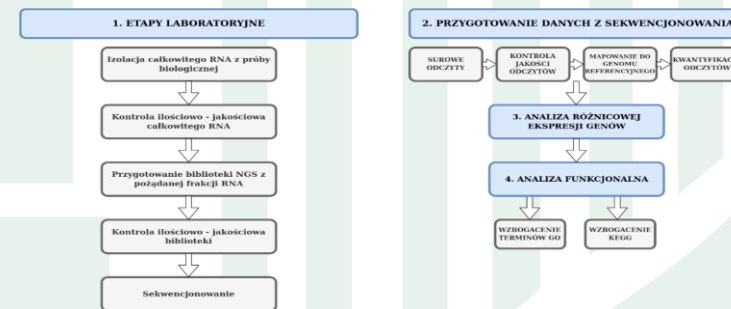
- Poziom relatywnej ekspresji obu genów w plastrach bulw był zróżnicowany pomiędzy badanymi odmianami/klonami ziemniaka jak i pomiędzy użytymi do inokulacji izolatami *P. infestans*.
- Najwyższy poziom relatywnej ekspresji obu genów obserwowano dla próbek klonu DG 69 (*Rpi-phu1* + *R2/R2-like*).
- W przypadku obu genów R można zaobserwować tendencję do początkowego wzrostu poziomu ekspresji (w dniu 1 lub 1 i 2) następnie spadku oraz ponownego jej wzrostu około dnia 4 po inokulacji.
- Profil ekspresji badanych genów w bulwach różnił się od analogicznych wyników uzyskiwanych dla listków tych samych klonów/odmian ziemniaka inokulowanych tymi samymi izolatami *P. infestans*, gdzie wzrost ekspresji obserwowano jedynie w 4 i 5 dniu po inokulacji wirulentnymi izolatami.



Wyniki i wnioski

Temat badawczy 3

- Uzyskano wysokiej jakości wyniki sekwencjonowania, które pozwoliły na przeprowadzenie właściwej analizy bioinformatycznej.
- Rozpoczęto wstępne analizy dla danych uzyskanych z sekwencjonowania oraz porównania profili ekspresji genów pomiędzy poszczególnymi grupami próbek (zgodnie z zaplanowanym harmonogramem).



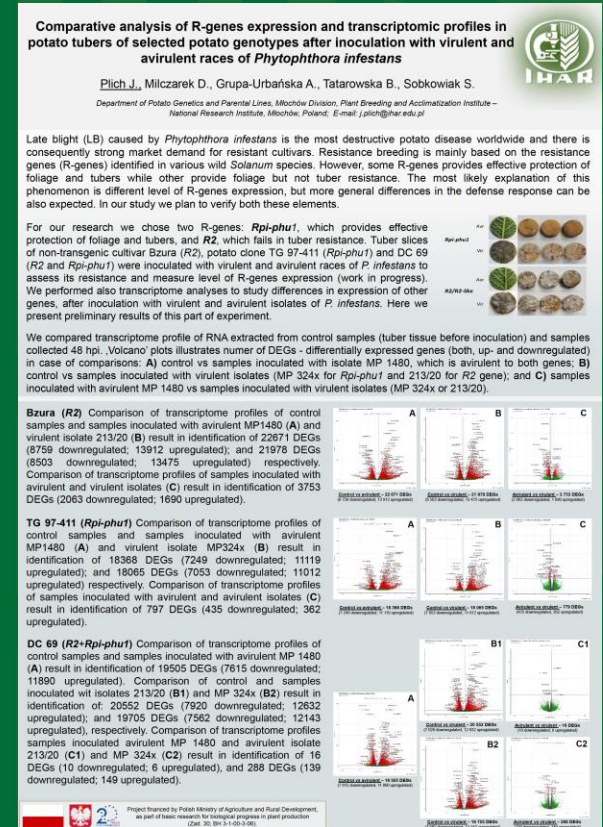
| Control group | Treatment group |
|---------------|-----------------|
| B_control | B_1480_24h |
| B_control | B_213/20_24h |
| B_1480_24h | B_213/20_24h |
| B_1480_24h | B_1480_48h |
| B_213/20_24h | B_213/20_48h |
| TG_control | TG_1480_24h |
| TG_control | TG_324x_24h |
| TG_1480_24h | TG_324x_24h |
| TG_1480_24h | TG_1480_48h |
| TG_324x_24h | TG_324x_48h |
| DC_control | DC_1480_24h |
| DC_control | DC_213/20_24h |
| DC_control | DC_324x_24h |
| DC_1480_24h | DC_213/20_24h |
| DC_1480_24h | DC_324x_24h |
| DC_324x_24h | DC_213/20_24h |
| DC_1480_24h | DC_1480_48h |
| DC_324x_24h | DC_324x_48h |
| DC_213/20_24h | DC_213/20_48h |

Prezentacja wyników:

Comparative analysis of R-genes expression and transcriptomic profiles in potato tubers of selected potato genotypes after inoculation with virulent and avirulent races of *Phytophthora infestans* (Poster)

22nd EAPR Triennale Conference, 7-12 lipca 2024, Oslo, Norwegia

Plich J., Milczarek D., Grupa-Urbańska A., Tatarowska B., Sobkowiak S.





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