1. Tytuł zadania: **Badania ekspresji i genetyczna charakterystyka odporności na bakterie *Dickeya* *solani* w wyróżnionych źródłach odporności w ziemniaku na poziomie diploidalnym. (nr 56)**
2. Kierownik zadania: dr hab. Renata Lebecka, IHAR - PIB, Oddział Młochów

3. W 2019 r. celem pracy było: (a) Zmapowanie loci ilościowych odporności bulw ziemniaka na bakterie *D. solani* na podstawie wyników trzyletniej oceny laboratoryjnej porażenia bulw potomstwa populacji mapującej, pochodzącej po skrzyżowaniu formy wysokoodpornej na *D. solani* (DG 00-270) z formą podatną (DG 08-305) i zbadanie związku odporności bulw na *D. solani* z zawartością skrobi w bulwach., (b) Zlokalizowanie na mapie genetyczej ziemniaka markerów genów kodujących białka wyróżnione w rodzicach populacji mapującej we wczesnej fazie objawowej infekcji po inokulacji bakteriami *Dickeya solani* i zbadanie ich związku z odpornością bulw ziemniaka na bakterie *D. solani* w populacji mapującej.

**(a) Ocena odporności bulw populacji mapującej i ocena poziomu skrobi w bulwach potomstwa i form rodzicielskich populacji mapującej. Analiza wyników genotypowania metodą DArTseq, konstrukcja mapy genetycznej przy użyciu programu JoinMap i porównanie uzyskanych wyników z lokalizacją sekwencji DArTseq w genomie referencyjnym ziemniaka. Analiza loci ilościowych (QTLs) odporności ziemniaka na bakterie *D. solani* i związku cechy z zawartością skrobi w bulwach.**

Populację mapującą złożoną ze 176 osobników i dwóch form rodzicielskich oceniono w teście laboratoryjnym pod względem odporności bulw na bakterie D. solani i pod względem zawartości skrobi w bulwach. Wyniki testów wyrażono w sposób następujący, średnia masa zgniłej tkanki z bulw porażonych (RT), średnia porażenia ze wszystkich inokulowanych bulw (SR), udział bulw porażonych (DI) oraz % skrobi (Zgórska, 2001).Formy rodzicielskie i potomne populacji mapującej zostały poddano genotypowaniu przez sekwencjonowanie metodą DArTseq w zewnętrznej firmie Diversity Array Technology Ltd. z Australii. Sekwencje DArTseq i zmapowane na mapie fizycznej referencyjnego genomu ziemniaka DM1-3 przy użyciu algorytmu BLAST. Wykryty polimorfizm sekwencji DNA przekodowano na markery (1 – obecny u danego osobnika populacji mapującej, 0 – nieobecny). Segregujące markery DArTseq wykorzystano do konstrukcji mapy genetycznej, przy użyciu programu JoinMap ® 4.1 (Van Ooijen 2012) i metod wcześniej opisanych (Plich et al. 2018). Poprawność mapy genetyczność zweryfikowano w oparciu o mapę fizyczną genomu ziemniaka. Mapowanie loci cech ilościowych, odporności bulw na *D. solani* i zawartości skrobi w bulwach, wykonano przy użyciu mapowania interwałowego QTL w programie MapQTL ® 6 (Van Ooijen 2009), podobnie jak w pracach poświęconych innym cechom ilościowym (Hara-Skrzypiec 2018a i b). Uzyskano, wspólną dla obojga rodziców, mapę genetyczną liczącą 2259 markerów o łącznej długości 1160,7 cM. Stosując mapowanie interwałowe w programie MapQTL ® 6 wykryto jeden QTL o dużym wpływie na wszystkie trzy parametry porażenia mokrą zgnilizną bulw, we wszystkich trzech latach badań oraz dla średnich trzyletnich i jeden o słabszym efekcie na RT i SR.

Na podstawie uzyskanych wyników nie ma podstaw do odrzucenia hipotezy o braku związku pomiędzy zawartością skrobi w bulwach a ich odpornością na bakterie powodujące gnicie bulw.

**(b) Mapowanie genów kodujących białka różnicowe wykryte w formach rodzicielskich populacji mapującej ziemniaka we wczesnej fazie objawowej infekcji po inokulacji bakteriami *Dickeya solani*.**

Zmapowano po raz pierwszy na mapie genetycznej ziemniaka markery dwóch genów: inhibitora metalokarboksydazy (M1D4V9), przypuszczalnego inhibitora metalokarboksydazy (M0ZJ50). Potwierdzono lokalizację markerów trzech genów: glutaredoksyny (B3F8F4), inhibitora proteinazy typu 2 CM7 (Q43652), indukowanego zranieniem inhibitora proteinazy (P08454). Żaden z tych markerów nie znajduje się w regionach zmapowanych QTL odporności bulw na bakterie *D. solani*.

**Wnioski**

* W prezentowanej pracy po raz pierwszy zlokalizowano QTL o dużym wpływie na wszystkie trzy badane parametry (RT, SR i DI) opisujące odporność bulw ziemniaka na bakterie *D. solani*, oraz o słabszym efekcie na dwa parametry badane (RT i SR). Otrzymane wyniki dają możliwość dalszego poszukiwania w zidentyfikowanych regionach QTL genów kandydujących odporności bulw na bakterie.
* Zmapowane geny kandydujące, kodujące białka różnicowe wykryte we wczesnej fazie infekcji w formach rodzicielskich populacji DS-13 nie znajdują się w zidentyfikowanych obszarach QTL odporności bulw. Wyjaśnienie roli tych białek wymaga dalszych badań.
* Nie potwierdzono związku zawartości skrobi z cechą badaną, co pozwala na wyselekcjonowanie genotypów ziemniaka łączących wysoki poziom odporności z wysoką zawartością skrobi.
* Zdolność dipoidalnych mieszańców międzygatunkowych *Solanum* do tworzenia gamet   
  o niezredukowanej liczbie chromosomów pozwala na bezpośrednie krzyżowanie tych form z rodami tetraploidalnymi i przeniesienia odporności na bakterie *D. solani* na poziom tetraploidalny.

**Literatura**

Hara Skrzypiec A., Śliwka J., Jakuczun H., Zimnoch-Guzowska E. 2018a. Quantitative trait loci for tuber blackspot bruise and enzymatic discoloration susceptibility in diploid potato. Molecular Genetics and Genomics 293(2): 331-342.

Hara-Skrzypiec A., Śliwka J., Jakuczun H., Zimnoch-Guzowska E. 2018b. QTL for tuber morphology traits in diploid potato. Journal of Applied Genetics 59(2): 123-132.

Plich J., Przetakiewicz J., Śliwka J., Flis B., Wasilewicz-Flis I., Jakuczun H., Zimnoch-Guzowska E. 2018. Novel gene *Sen2* conferring broad-spectrum resistance to *Synchytrium endobioticum* mapped to potato chromosome XI. Theoretical and Applied Genetics 131(11): 2321-2331

Van Ooijen J.W. 2012. JoinMap ® 4.1, Software for the calculation of the genetic linkage maps in experimental populations of diploid species. Kyazma BV, Wageningen

Van Ooijen J.W. 2009. MapQTL ® 6, Software for mapping of quantitative trait loci in experimental populations of diploid species. Kyazma BV, Wageningen

Zgórska K., 2001. Oznaczanie zawartości skrobi w bulwach ziemniaka. W: Monografie i rozprawy naukowe IHAR Radzików, 10a, 113-116.