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

Numer zadania: **30**; Numer zadania w planach IHAR-PIB: **3-1-00-3-06**

Kierownik: dr Jarosław Plich

**Temat badawczy 1. Ocena poziomu odporności roślin i bulw wybranych odmian/klonów ziemniaka na *P. infestans*.** Głównym celem tematu w roku 2021 był dobór materiału badawczego do dalszych badań, tj. grupy odmian/klonów ziemniaka o pożądanym zestawie genów R oraz grupy izolatów *P. infestans* o pożądanym profilu wirulencji.

Na podstawie przeprowadzonych badań wytypowano dwa izolaty *P. infestans* o pożądanym profilu wirulencji: izolat 213/20 (wirulentny w stosunku do genu *R2* i jednocześnie awirulentny w stosunku do genu *Rpi-phu1*)oraz MP 324x (awirulentny w stosunku do genu *R2* i jednocześnie wirulentny w stosunku do genu *Rpi-phu1*). Wytypowano także grupę 40 klonów, po 10 z każdej grupy różniącej się obecnością/brakiem genów *R2/R2-like* i *Rpi-phu1*. Klony te, wraz ze swoimi formami rodzicielskimi, będą stanowiły roślinny materiał badawczy w dalszych latach realizacji zadania. Wykorzystanie wytypowanych izolatów *P. infestans* oraz grupy klonów ziemniaka należących do czterech ww. grup umożliwi wszechstronne zbadanie interakcji ziemniaka – *P. infestans* w przypadku kompatybilnej jak i niekompatybilnej reakcji odpornościowej warunkowanej genami *R2/R2-like* i *Rpi-phu1*.

**Temat badawczy 2. Ocena poziomu ekspresji wybranych genów R w naci i bulwach roślin ziemniaka.** Głównym celem tematu badawczego w roku 2021 był dobór i optymalizacja metodyki izolacji RNA z liści ziemniaka i metodyki badania poziomu ekspresji genów oraz wybór genu referencyjnego do tych badań.

Przeprowadzone porównanie efektywności metod izolacji RNA wykazało, że wszystkie testowane metody są bardzo skuteczne i mogą z powodzeniem zostać zastosowane w dalszych pracach nad realizacją Zadania. Przeprowadzenie badania wskazują, że dwa spośród pięciu badanych genów dają powtarzalne wyniki i oba mogą być wykorzystane jako gen referencyjny. Rozpoczęto także prace nad poziomem ekspresji genów *R2/R2-like* i *Rpi-phu1* w przypadku kompatybilnej i niekompatybilnej interakcji z *P. infestans*. Zgodnie z zaplanowanym harmonogramem przeprowadzono reakcje qPCR w celu wstępnego określenia relatywnego poziomu ekspresji tych genów, a uzyskane wyniki wskazują, że zastosowanie wybranej metodyki pozwoli na zrealizowanie zaplanowanych w Zadaniu prac.

**Temat badawczy 3. Analiza różnicowa ekspresji genów w bulwach wybranych form ziemniaka.** Celem tematu badawczego w 2021 roku był dobór i optymalizacja metodyki izolacji RNA z bulw ziemniaka.

Wyniki przeprowadzonych testów przydatności poszczególnych metod ekstrakcji RNA z tkanki bulw ziemniaka wskazują, że rodzaj wykorzystanej tkanki może spowodować utrudnienia dla wybranych przez nas komercyjnie dostępnych zestawów do izolacji RNA. Zastosowanie metody wg Chomczyńskiego pozwala na uzyskanie dużej ilości dobrej jakości RNA nawet z trudnych do obróbki próbek roślinnych. Metoda ta może być rekomendowana do stosowania w dalszych pracach nad realizacją Zdania. W 2021 roku rozpoczęto także prace nad doborem genu referencyjnego oraz nad poziomem ekspresji genów *R2/R2-like* i *Rpi-phu1* w przypadku kompatybilnej i niekompatybilnej interakcji z *P. infestans*. Uzyskane wyniki są zadowalające i wskazują, że zastosowanie wybranej metodyki pozwoli na zrealizowanie zaplanowanych w Zadaniu prac.