

Białka różnicowe w bulwach odmian ziemniaka o różnym poziomie odporności na bakterie *Dickeya solani*

Lebecka R¹,
Dębski J²., Kistowski M², Murawska Z¹, Szajko K¹, Marczewski W¹

¹ Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy,

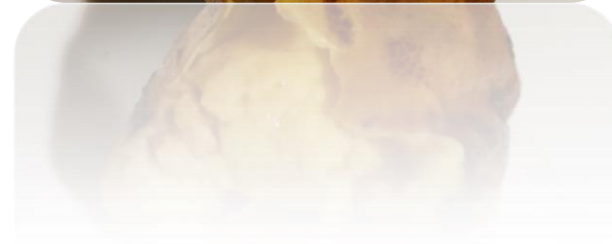
² Instytut Biochemii i Biofizyki, Polska Akademia Nauk

Wstęp

Czarna nóżka ziemniaka



Mokra zgnilizna



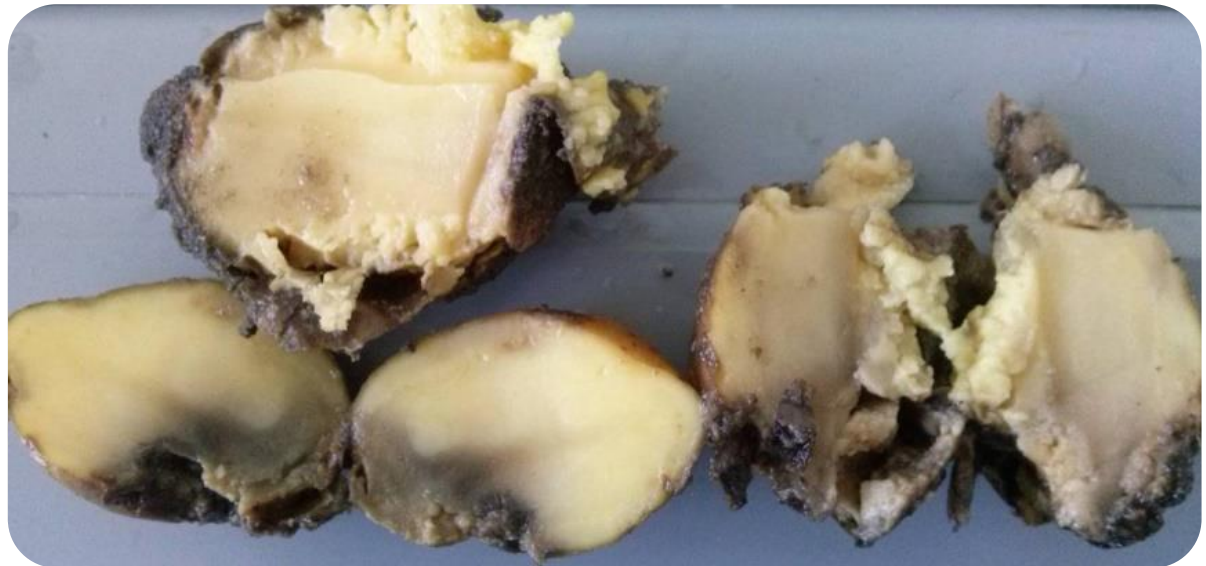
Wstęp

Sprawcy:

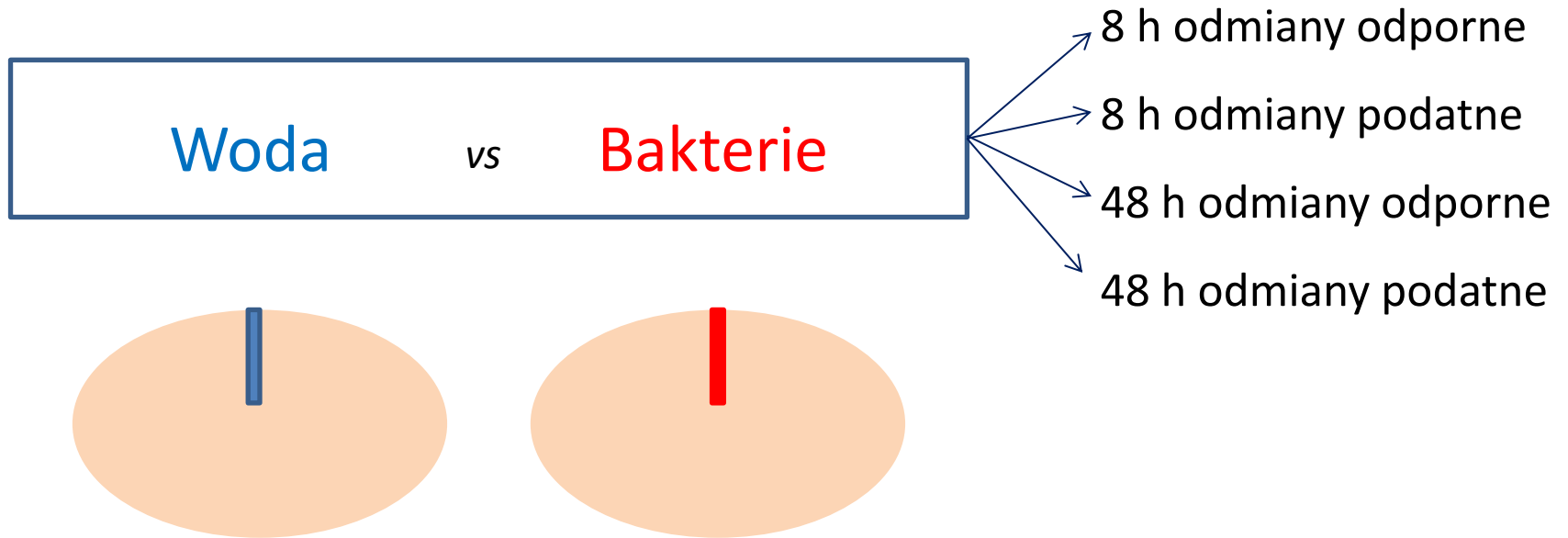
- *Pectobacterium atrosepticum*
- *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*
- *P. parmentieri*
- *P. carotovorum* subsp. *brasiliense*
- *P. polaris*
- *Dickeya solani*
- *D. dianthicola*
- *D. dadantii*
- *D. zeae*

Straty:

- obniżenie stopnia kwalifikacji plantacji nasiennych,
- obniżenie plonu bulw,
- strata plonu bulw w czasie przechowywania.

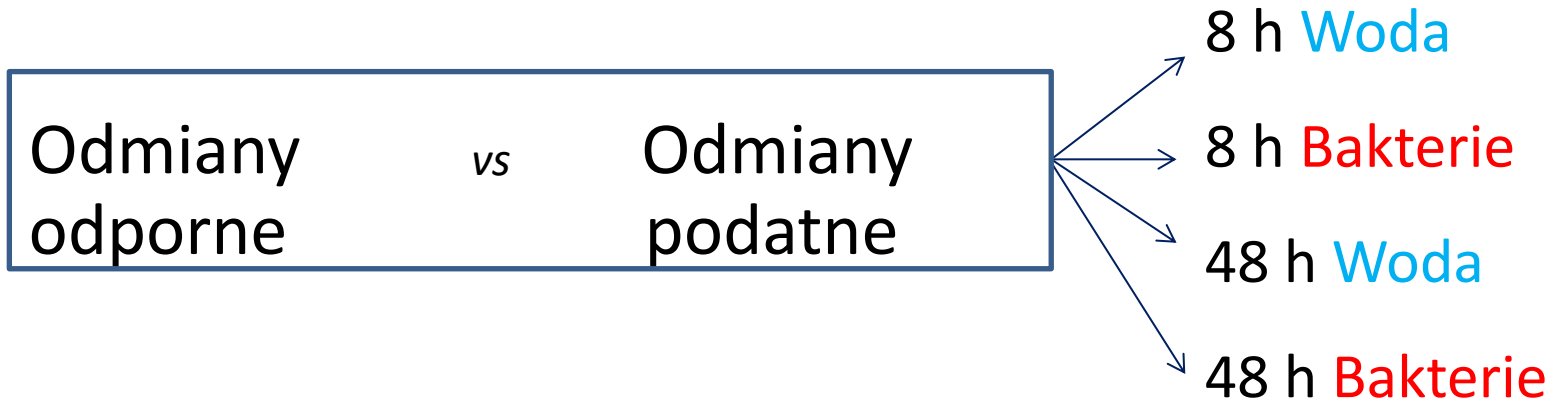


Cel



- ❑ Różnice pomiędzy białkami w bulwach inokulowanych w zranienie i traktowanych wodą

Cel



- ❑ Różnice pomiędzy białkami w odmianach ziemniaka odpornych i podatnych na bakterie powodujące mokrą zgniliznę bulw

Materiał roślinny

5 odmian ziemniaka:

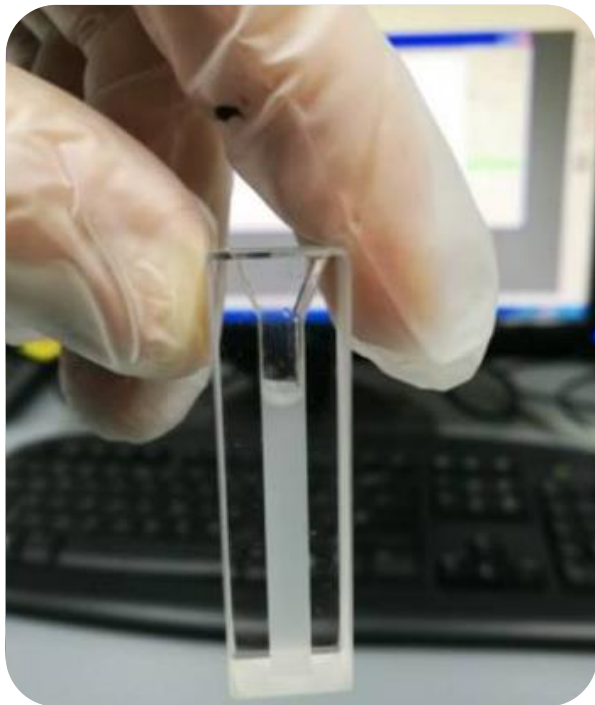
- 3 pochodzą od odmiany Katahdin,
- odmiana Katahdin,
- Podatna odmiana Irys.

2 klony diploidalne:

- DG 00-270,
- DG 08-305



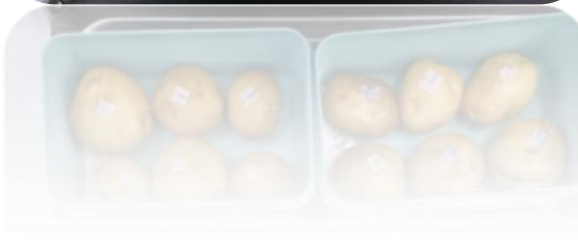
Metody: inokulacja ranionych bulw bakteriami



10 μ L inokulum 10^9 jtk/mL

Metody: inkubacja T 26°C przez trzy dni

58 bulw/odmianę (5 doświadczeń w trzech latach)



Odporne

Humalda

Bea



Podatne

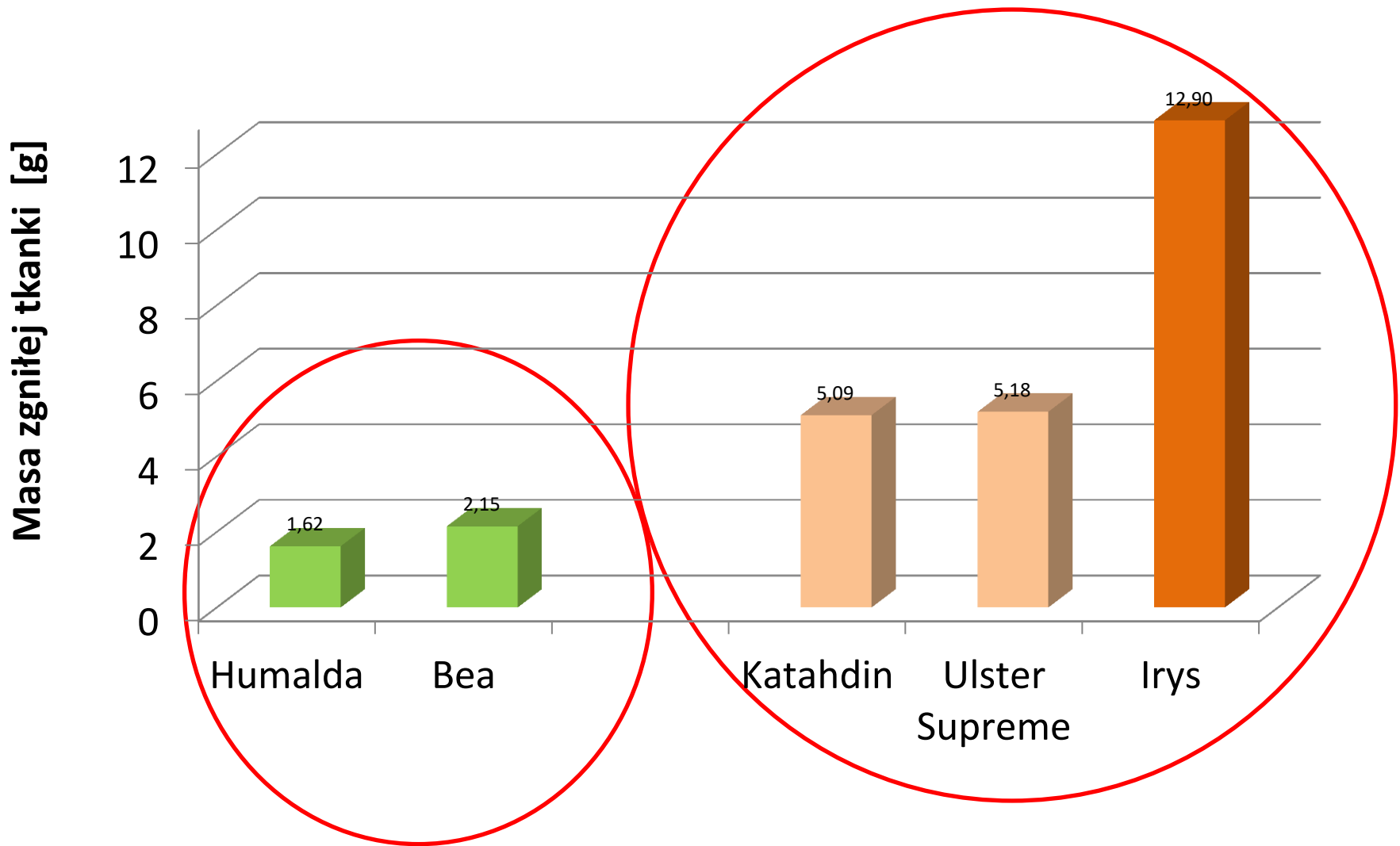
Katahdin

Ulster Supreme

Irys



Średnia trzyletnia oceny wielkości porażenia bulw odmian ziemniaka bakteriami *Dickeya solani*



Skrajne reakcje

- Humalda



- Irys



Odporność bulw na bakterie – dziedziczenie wielogenowe

Schemat doświadczenia

8 h
(2017)

Marzec

4 W

4 B

Kwiecień

4 W

4 B

48 h
(2016)

Marzec

2 W

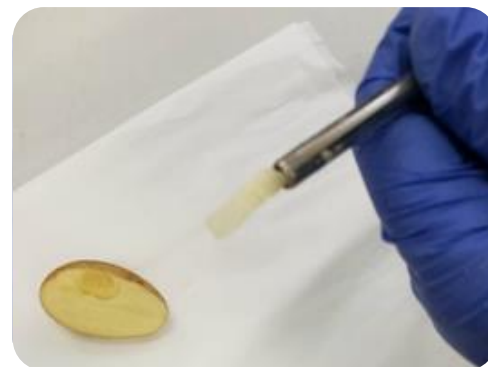
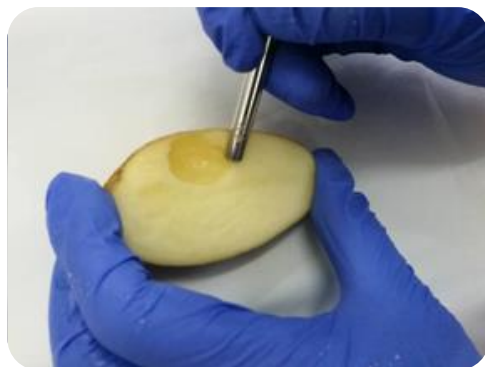
2 B

Kwiecień

4 W

4 B

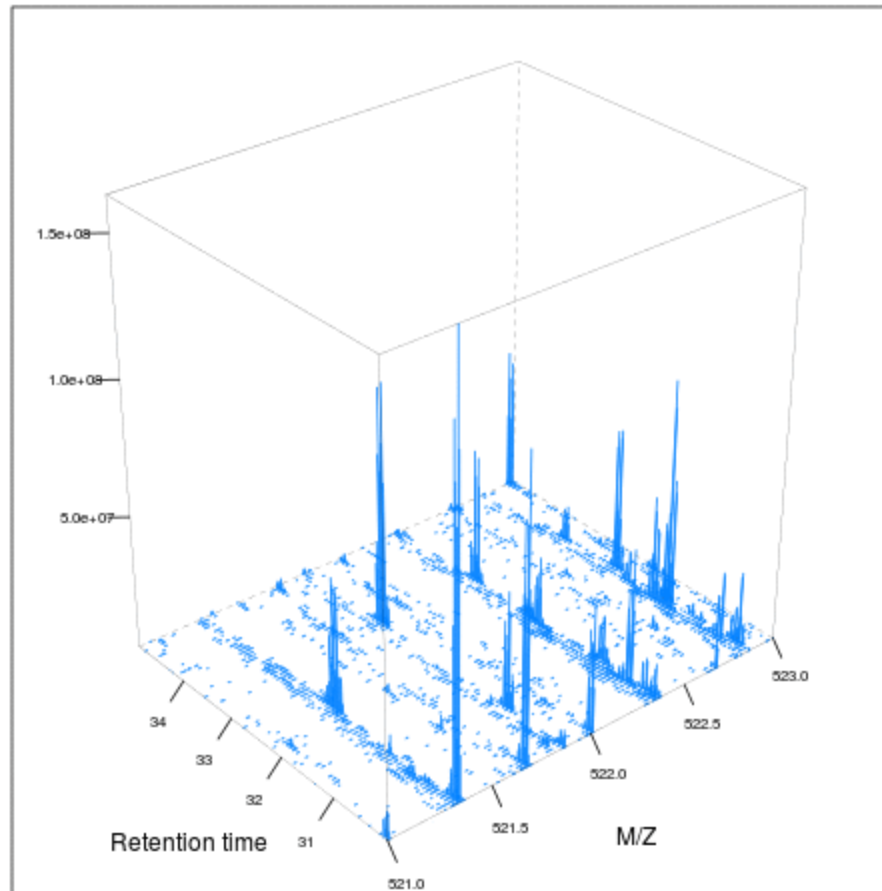
Pobieranie prób



Liofilizacja



Identyfikacja białek LC-MS/MS (Nano-Acquity LC + spektrometr mas Q-Exactive)

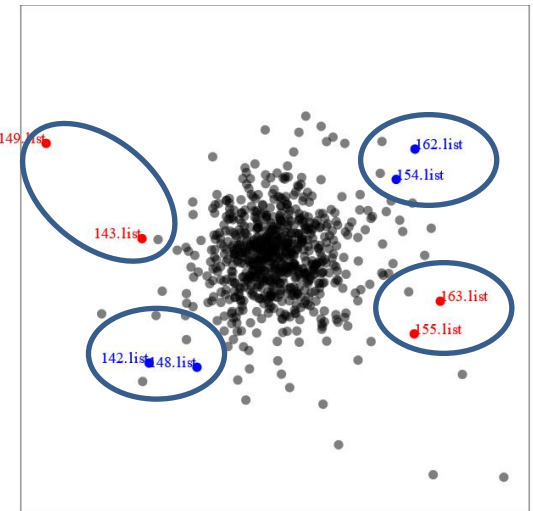
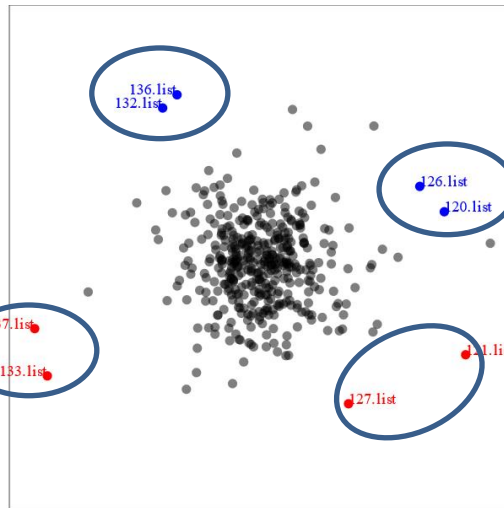
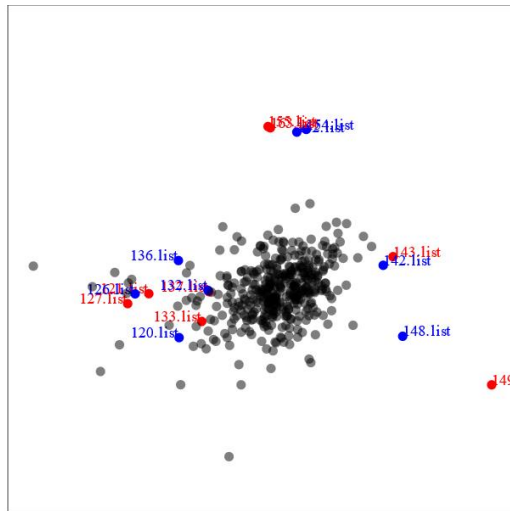


Humalda 8h

Dwa terminy

21.03.2017

26.04.2017

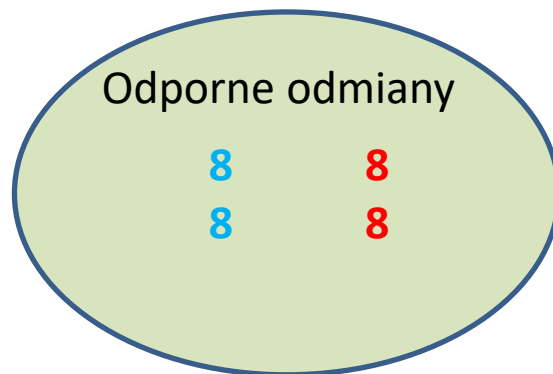


Porównanie Woda - Bakterie

Odmiana	8 h		48 h	
	Woda	Dsol	Woda	Dsol
Bea	8	8	2	2
Humalda	8	8	6	6
Katahdin	8	8	6	6
Ulster Supreme	8	8	6	6
Irys	8	8	6	6

Porównanie Woda - Bakterie

Odmiana	8 h		48 h	
	Woda	Dsol	Woda	Dsol
Bea			2	2
Humalda			6	6
Katahdin	8	8	6	6
Ulster Supreme	8	8	6	6
Irys	8	8	6	6



Brak istotnych różnic 8 h po inokulacji

Porównanie Woda - Bakterie

Odmiana	8 h		48 h	
	Woda	Dsol	Woda	Dsol
Bea			2	2
Humalda			6	6
Katahdin			6	6
Ulster Supreme			6	6
Irys			6	6

Odporne odmiany

8 8
8 8

Podatne odmiany

8 8
8 8
8 8

Brak istotnych różnic 8 h po inokulacji

Porównanie Woda - Bakterie

Odmiana	8 h		48 h	
	Woda	Dsol	Woda	Dsol
Bea	8	8	2	2
Humalda	8	8	6	6
Katahdin	8	8		
Ulster Supreme	8	8		
Irys	8	8		

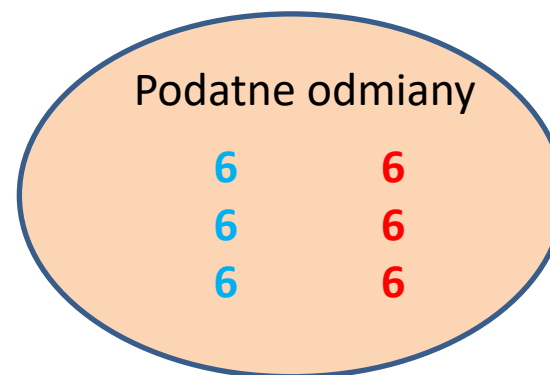
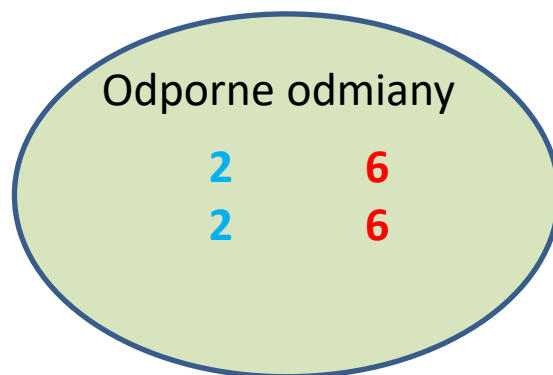
Podatne odmiany

6	6
6	6
6	6

**Brak istotnych różnic
48 h po inokulacji**

Porównanie Woda - Bakterie

Odmiana	8 h		48 h	
	Woda	Dsol	Woda	Dsol
Bea	8	8		
Humalda	8	8		
Katahdin	8	8		
Ulster Supreme	8	8		
Irys	8	8		



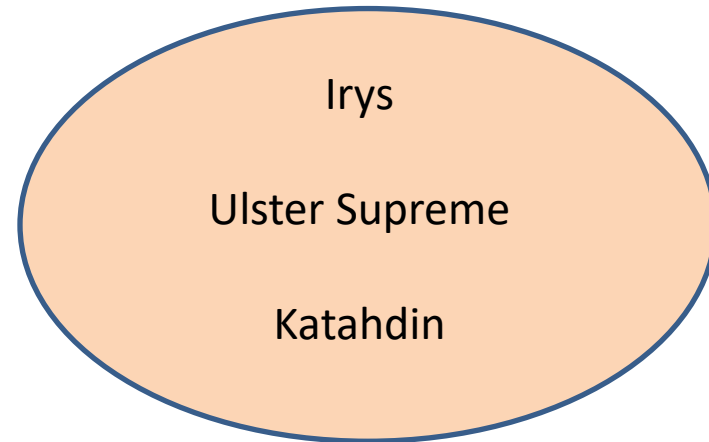
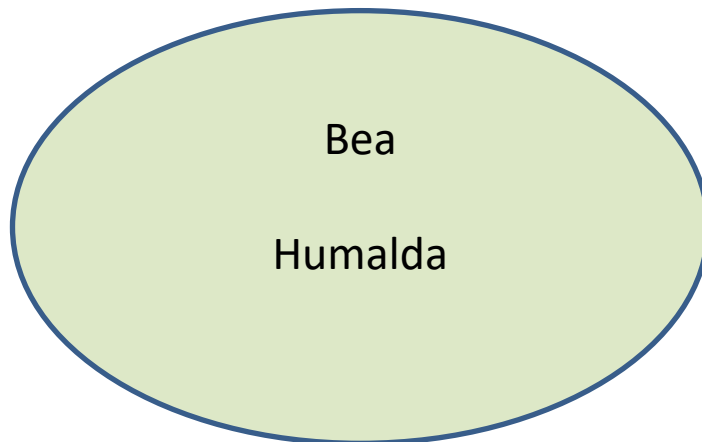
Peroksydazy

Poziom zmiany 2.33 (P=0.0025)

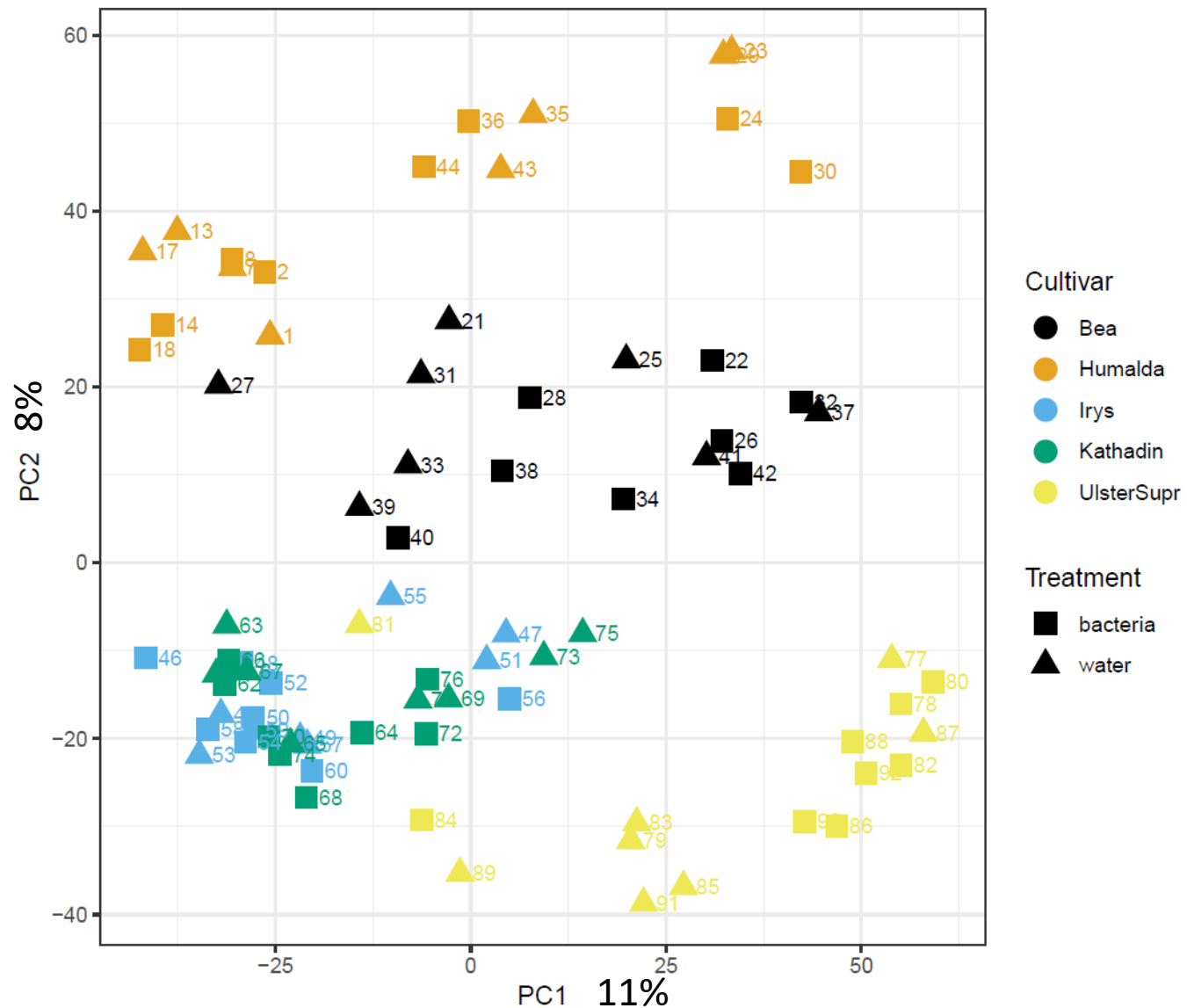
Brak istotnych różnic
48 h po inokulacji

Porównanie odmiany odporne - podatne

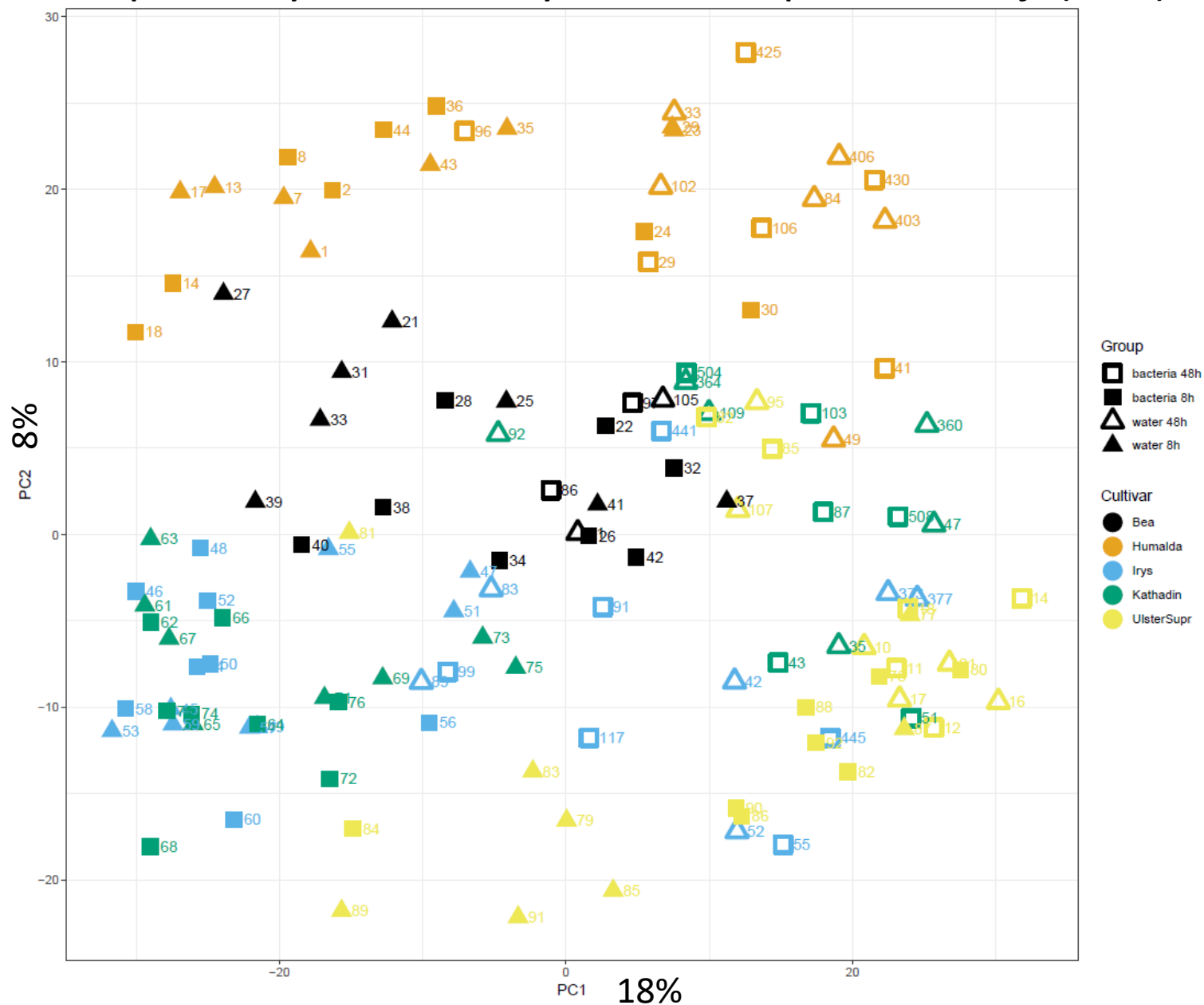
Odmiana	8 h		48 h	
	Woda	Dsol	Woda	Dsol
Bea	8	8	2	2
Humalda	8	8	6	6
Katahdin	8	8	6	6
Ulster Supreme	8	8	6	6
Irys	8	8	6	6



Analiza pierwszych składowych 8 h po inokulacji (PCA)



Analiza pierwszych składowych 8 i 48 h po inokulacji (PCA)



8 h

Thiamine thiazole synthase

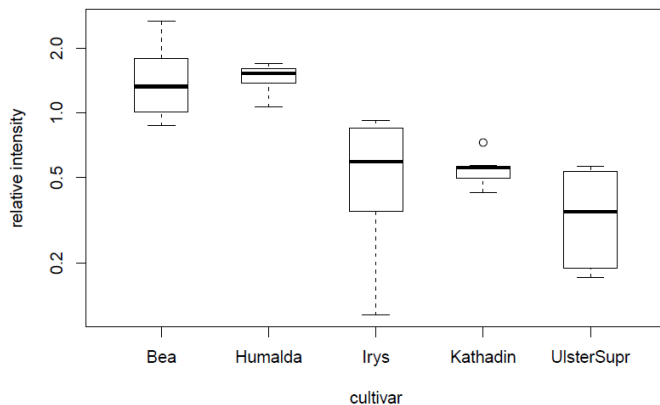
R : S

Woda 2.28 ns

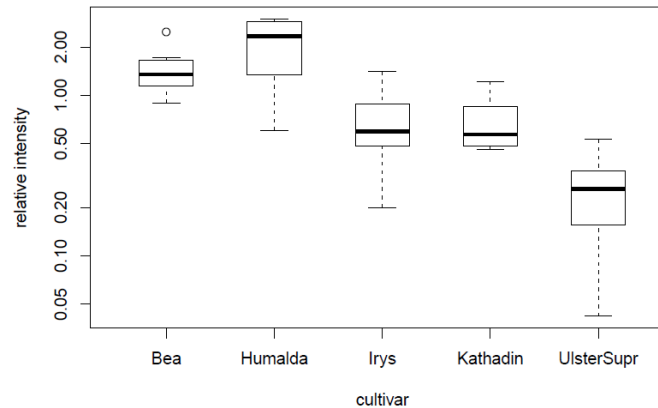
R : S

Bakterie 4.60**

M1BNZ3: Thiamine thiazole synthase, chloroplastic (water, 8h)

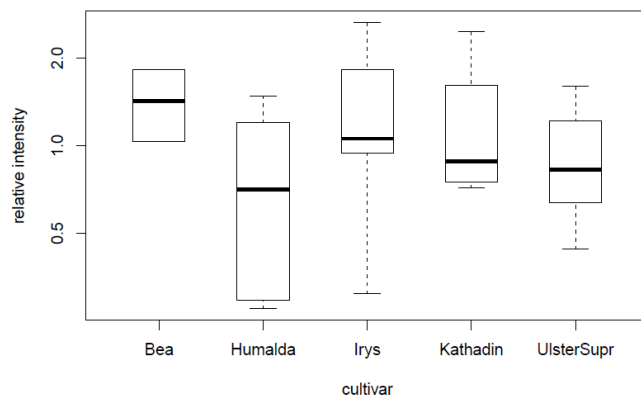


M1BNZ3: Thiamine thiazole synthase, chloroplastic (bacteria, 8h)

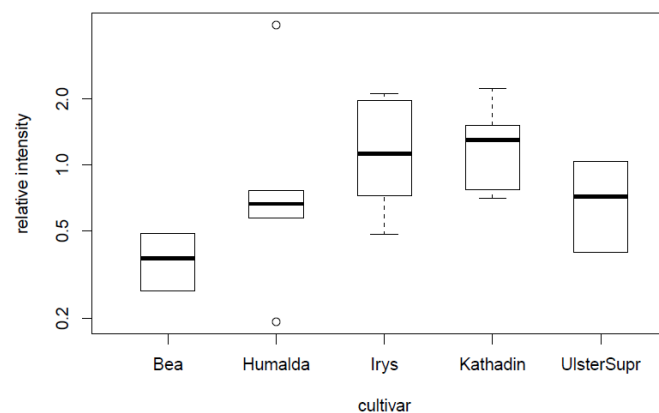


48 h

M1BNZ3: Thiamine thiazole synthase, chloroplastic (water, 48h)



M1BNZ3: Thiamine thiazole synthase, chloroplastic (bacteria, 48h)



Białka stresu i obrony

8 h

Proteinase inhibitor PTI

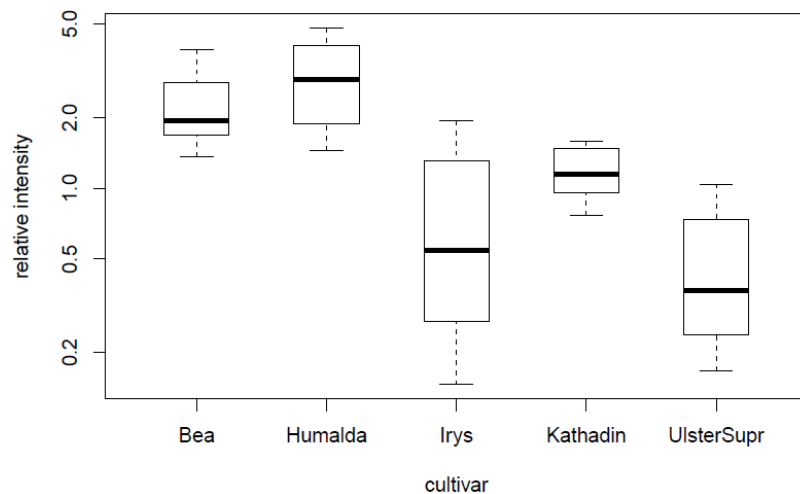
R : S

Woda 2.72 ns

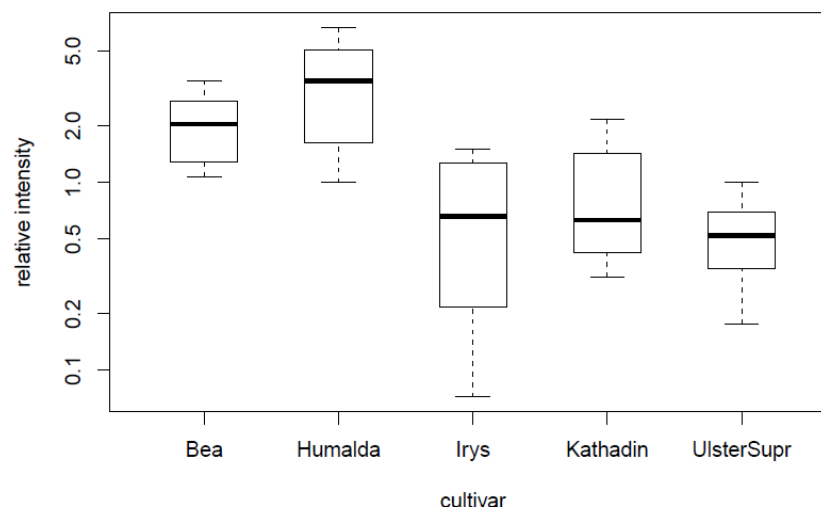
R : S

Bakterie 4.07***

P01079: Proteinase inhibitor PTI (water, 8h)



P01079: Proteinase inhibitor PTI (bacteria, 8h)



Translacja, przetwarzanie i degradacja białek

Wyższa ekspresja białek w odmianach odpornych na mokrą zgniliznę

Kategoria	Białko	8h		48h	
		Bakteria	Woda	Bakteria	Woda
Białka stresu i obrony	Proteinase inhibitor type-2	***	*	**	***
	Probable inactive patatin-03-Kuras 1	***	**	**	***
	Thiamine thiazole synthase	**	NS		
	Aspartic protease inhibitor 7			*	NS
Translacja, przetwarzanie i degradacja białek	Patatin-05; Patatin-03; Patatin-07	***	**		
	Endopeptidase inhibitor activity (M1AMY2)			***	**
	Chymotrypsin inhibitor I, A, B and C subunits	*	*	NS	*
	Proteinase inhibitor PTI	***	NS		
	Serine protease inhibitor	NS	*	*	**
	Aspartic protease inhibitor 3; 4; 5; 6; 8; 10			*	NS
	Similar to endoplasmin			*	NS
Fotosynteza i pierwotny metabolizm	Similar to polyphenol oxidase F, catechol oxidase B			**	NS

* $P \leq 0.1$; ** $P \leq 0.01$; *** $P \leq 0.001$

Wyższa ekspresja białek w odpornym mieszańcu międzygatunkowym *Solanum* (2x) 8h po inokulacji

Kategoria	Białko	Bakteria		Woda	
Białka stresu i obrony	Metallo-carboxypeptidase inhibitor	274,4	***	165.5	***
	Probable inactive patatin-03-Kuras 1	3.0	***	4.3	***
	Proteinase inhibitor type-2	15.3	***	17.7	***
	Similar to: pathogenesis related protein STH-2	1.9	***	1.6	*
	Glutaredoxin	2.3	**	3.9	
	Wound-induced proteinase inhibitor	13.3	*	29.8	**
	Similar to: Polyphenol oxidase B	3.43	*		
	17-3 kDa class II heat shock protein	3.61	*	5.07	**
	Superoxide dismutase			2.21	**
	Patatin	6.82	*	9.56	*



Odporny



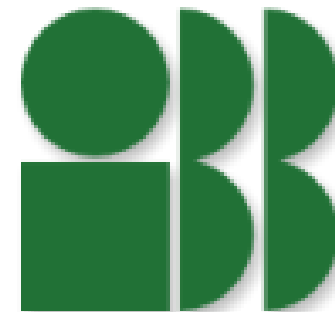
Podatny

Podsumowanie

- ❑ Znaleziono różnice w ekspresji białek pomiędzy odpornymi a podatnymi na mokłą zgniliznę bulw odmianami ziemniaka 8 i 48 godzin po inokulacji.
- ❑ Większość wykrytych białek różnicowych odmian odpornych i podatnych występuje zarówno w bulwach nieinokulowanych uszkodzonych mechanicznie jak i ranionych inokulowanych bakteriami.
- ❑ Różnice obserwowane zwłaszcza we wczesnej fazie infekcji mogą ogrywać ważną rolę w hamowaniu rozwoju objawów chorobowych.



Podziękowania



Zofia Murawska
Katarzyna Szajko
Waldemar Marczewski

Janusz Dębski
Michał Kistowski



Projekt Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi - Temat nr 56