

Tytuł zadania

Wyróżnianie form ziemniaka o złożonej odporności na mątwiki atakujące ziemniak przy wykorzystaniu metod konwencjonalnych i molekularnych. Charakterystyka nowego źródła odporności na *Globodera pallida* znalezionej w *Solanum gourlayi*.

Kierownik zadania

dr Dorota Milczarek

Cel zadania

Celem zadania jest poznanie genetycznych uwarunkowań odporności na mątwiki zaobserwowanej w gatunku *S. gourlayi* oraz wyróżnienie w obrębie ziemniaka o różnych kierunkach użytkowania form o złożonej odporności na mątwiki atakujące ziemniak (patotypy mątwika ziemniaczanego - *Globodera rostochiensis* i mątwika agresywnego - *G. pallida*).

Celem tematów realizowanych w ramach zadania w 2017 roku było: a) Przeprowadzenie oceny odporności wybranych klonów diploidalnych i tetraploidalnych na patotypy *G. pallida*; b) Przeprowadzenie doświadczenia polowego z udziałem materiałów tetraploidalnych: ocena plonu bulw, ich morfologii oraz zawartości skrobi. Selekcja form o złożonej odporności na mątwiki będzie częściowo prowadzona z wykorzystaniem diagnostycznych markerów molekularnych. Przeprowadzenie krzyżowań interploidalnych mających na celu wprowadzenie odporności ze źródła *Solanum gourlayi* na poziom tetraploidalny; c) Namnożenie materiału bulwowego diploidalnej populacji mapującej, która pozwoli na poznanie genetycznych uwarunkowań odporności na mątwiki zaobserwowanej w gatunku *S. gourlayi* i wysłanie DNA do analizy DArT.

Materiały i metody

W 2017 roku w ramach tematu przeprowadzono ocenę diploidalnych (2x) i tetraploidalnych (4x) klonów ziemniaka pod kątem odporności na patotypy Pa2 i Pa3 *Globodera pallida*. 197 klonów 4x oraz 148 klonów 2x, które wytworzyły 6 lub więcej bulw zostało przetestowanych pod kątem odporności na patotyp Pa3 *G. pallida*. 197 klonów 4x oraz 110 klonów 2x, które wytworzyły 14 i więcej bulw zostało przetestowanych pod kątem odporności na patotypy Pa2 *G. pallida*. Test przygotowano w 2-5 powtórzeniach dla kombinacji klon/patotyp.

Testy odporności zostały wykonane zgodnie z procedurą EPPO. Próby zostały przeprowadzone na pojedynczych bulwach w doniczkach o pojemności 1 litra z glebą zawierającą żywe cysty nicieni. Rośliny po posadzeniu rosły w szklarni przez sześć tygodni. Po tym okresie liczono cysty z każdej doniczki. Stosunek liczby cyst z badanego klonu do liczby cyst z podatnej odmiany kontrolnej stanowi o stopniu odporności danego genotypu. Odporność na nicienie jest oceniana w skali 9-cio stopniowej, w której 9 oznacza najwyższy stopień odporności.

Dla 92 klonów, przetestowanych pod kątem odporności na patotypy Pa2 i Pa3 *G. pallida* wykonano analizę molekularną obecności fragmentu diagnostycznego markera HC genu *GpaV_{vrn}* uzupełniając dane uzyskane dla 105 klonów w 2016 roku.

Przeprowadzono również doświadczenie polowe z udziałem klonów tetraploidalnych. Oceniano cechy takie jak: plon, zawartość skrobi, plon skrobi, wielkość bulw, kształt, regularność zarysu, głębokość oczek i intensywność występowania wad bulw.

Dla 92 klonów, przetestowanych pod kątem odporności na patotypy Pa2 i Pa3 *G. pallida* wykonano analizę molekularną obecności fragmentu diagnostycznego markera HC genu *GpaV_{vm}* uzupełniając dane uzyskane dla 105 klonów w 2016 roku. Porównano poziom cech agronomicznych klonów o zróżnicowanej amplifikacji tego markera. Ponadto Wybrane, wyróżniające się klony zostały przetestowane pod kątem obecności fragmentu diagnostycznego markera Gro1-4 genu *Gro1-4*.

Wykonano także program krzyżowań interploidalnych z wykorzystaniem trzech form rodzicielskich (klony 4x: PW 363 i 11-VIII-86 oraz klon 2x Sg 2/7), mający na celu wprowadzenie odporności z *Solanum gourlayi* na poziom tetraploidalny. Ze zdrowych bulw przygotowano rośliny do krzyżowań w formie szczepień na podkładkach z psianki i pomidora. W celu przedłużenia okresu kwitnienia rośliny prowadzono na 1-2 pędy. W trakcie kwitnienia pyłek zebrano, zabezpieczono oraz oceniono pod kątem płodności.

W polu namnożono materiał bulwowy 183 klonów z wybranej populacji mapującej DW 94-4235 x Sg 2/7. Klony wysadzono w polu na 4-krzakowych poletkach na przełomie kwietnia i maja w rozstawie 28:62,5 cm. W trakcie trwania sezonu wegetacyjnego sukcesywnie zabezpieczano materiał DNA. Klony zebrano po całkowitym zaschnięciu naci. DNA klonów potomnych, nie poddanych analizie w poprzednim sezonie, oraz form rodzicielskich przesłano do analizy DArT.

Wyniki i dyskusja

W ramach tematu przeprowadzono ocenę odporności diploidalnych (2x) i tetraploidalnych (4x) klonów ziemniaka na patotypy Pa2 i Pa3 mątwika agresywnego (*Globodera pallida*). Spośród 197 testowanych klonów 4x 82 klony były odporne zarówno na patotyp Pa2 jak i na patotyp Pa3. Odporność przetestowanych klonów tetraploidalnych mieściła się w zakresie od 1 do 9, co pozwoli na określenie selekcyjności markera HC w stosunku do klonów odpornych na patotypy Pa2/3 w badanych populacjach. Wykorzystanie markerów DNA w procesie selekcji w praktyce hodowlanej pozwala na potwierdzenie obecności genów odporności na bardzo wczesnym etapie hodowli (Gebhardt 2013). Istotne jest jednak ustalenie przydatności markerów molekularnych do oceny materiałów hodowlanych pochodzących z różnych pul genetycznych (Sharp i in., 2001). Na podstawie oceny zgodności wyników dwuletniej oceny fenotypowej odporności klonów 4x na patotypy Pa2 i Pa3 *G. pallida* oraz amplifikacji selekcyjnego fragmentu markera HC można stwierdzić, że marker ten jest przydatnym narzędziem diagnostycznym.

W praktyce hodowlanej korzystne jest łączenie genów odporności na mątwiki. Kumulacja genów odporności (łączenie genów nadających odporność na różne patogeny) zapewnia odporność na szerokie spektrum szkodników. Natomiast piramidyzacja genów odporności (łączenie genów nadających odporność na ten sam patotyp) utrudnia powstawanie wirulentnych ras patogenów. Istotne jest więc poszukiwanie nowych nie wykorzystanych dotąd źródeł odporności. W roku 2017 w ramach tematu przeprowadzono ocenę odporności na patotypy Pa2 i Pa3 klonów wybranej mapującej populacji diploidalnej. Spośród badanych klonów 17 było odpornych na patotyp Pa2, a 88 było odpornych na patotyp Pa3. Odporność przetestowanych klonów diploidalnych mieściła się w zakresie od 1 do 9, co pokazuje segregację poszukiwanej cechy w wytypowanej diploidalnej populacji mapującej i pozwoli na zbadanie podłoża genetycznego odporności pochodzącej z wykorzystanego źródła – *Solanum gourlayi*.

Przeprowadzono doświadczenie polowe z udziałem klonów tetraploidalnych. Oceniano cechy takie jak: plon, zawartość skrobi, plon skrobi, wielkość bulw, kształt, regularność zarysu, głębokość oczek i nasilenie występowania wad bulw. Ocena cech użytkowych klonów 4x wskazuje na dobry

poziom plonowania i cech morfologicznych bulw klonów uzyskanych w wyniku krzyżowań form o złożonej odporności na *Globodera* spp. 37 wyróżniających się klonów przetestowano dodatkowo pod kątem amplifikacji markera genu *Gro1-4* (*Gro1-4*), nadającego roślinom ziemniaka odporność na patotypy Ro1 i Ro5 *G. rostochiensis*. 21 klonów posiadało ten marker. Spośród nich cztery klony posiadają również marker 57R genu *H1* oraz marker HC genu *GpaV_{vrn}*.

W wyniku przeprowadzenia programu krzyżowań interploidalnych uzyskano 158 jagód co wskazuje na możliwość wprowadzenia odporności z *Solanum gourlayi* na poziom tetraploidalny.

W polu namnożono również materiał bulwowy wybranej populacji mapującej. DNA z części tej populacji przesłano do analizy DArT. Po wykonaniu w przyszłym roku powtórnych testów fenotypowych odporności na patotypy *G. pallida* przeprowadzona zostanie analiza genetyczna odporności *Solanum gourlayi*.

Wnioski

1. Odporność przetestowanych klonów tetraploidalnych w powtórным teście wykonanym w 2017 roku mieściła się w zakresie od 1 do 9, co pozwoli na określenie selekcyjności markera HC w stosunku do klonów odpornych na patotypy Pa2/3 w badanych populacjach tetraploidalnych.
2. Odporność przetestowanych klonów diploidalnych mieściła się w zakresie od 1 do 9, co pokazuje segregację poszukiwanej cechy w wytypowanej diploidalnej populacji mapującej i pozwoli na zbadanie podłoża genetycznego odporności pochodzącej z wykorzystanego źródła – *Solanum gourlayi*.
3. Ocena klonów 4x wskazuje na nie odbiegający od odmian wzorcowych poziom cech użytkowych klonów uzyskanych w wyniku krzyżowań form o złożonej odporności na *Globodera* spp. oraz możliwość wytypowania spośród nich klonów o wysokim poziomie badanych cech połączonych z odpornością na patotypy *Globodera* spp.
4. Stwierdzono wyraźny związek pomiędzy obecnością fragmentu diagnostycznego markera HC a odpornością roślin na patotypy Pa2 i Pa3 *G. pallida* w badanej puli materiałów można więc stwierdzić, że marker ten jest przydatnym narzędziem diagnostycznym dla tej cechy.
5. Wyselekcjonowano cztery klony posiadające markery *Gro1-4* genu *Gro1-4*, 57R genu *H1* oraz marker HC genu *GpaV_{vrn}* o dość dobrym poziomie cech użytkowych co potwierdza możliwość wyselekcjonowania wśród badanych materiałów klonów o złożonej odporności na patotypy *Globodera* spp. za pomocą markerów molekularnych.
6. Uzyskano 158 jagód po zapyleniu klonów PW 363 oraz 11-VIII-86 pyłkiem formy diploidalnej Sg 2/7 co wskazuje na możliwość wprowadzenia odporności z *Solanum gourlayi* na poziom tetraploidalny.
7. Współczynnik namnożenia bulw materiałów diploidalnych wskazuje na uzyskanie dla populacji DW 94-4235 x Sg 2/7 wystarczającej liczby bulw do przeprowadzenia testów odporności w kolejnym sezonie.
8. DNA z części populacji DW 94-4235 x Sg 2/7 przesłano do analizy DArT. Po wykonaniu w przyszłym roku powtórnych testów fenotypowych odporności na patotypy *G. pallida* możliwe będzie przeprowadzenie analizy genetycznej odporności *Solanum gourlayi*.