

WYRÓŻNIANIE FORM ZIEMNIAKA O ZŁOŻONEJ ODPORNOŚCI
NA MĄTWIKI ATAKUJĄCE ZIEMNIAK PRZY WYKORZYSTANIU
METOD KONWENCJONALNYCH I MOLEKULARNYCH.

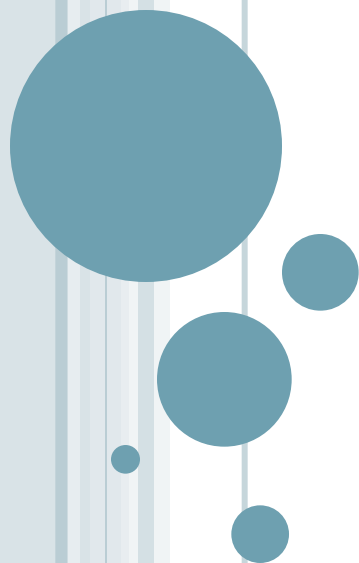
CHARAKTERYSTYKA NOWEGO
ŹRÓDŁA ODPORNOŚCI NA *Globodera pallida*
ZNALEZIONEGO W *Solanum gourlayi*.

2014 - 2020

Kierownik: dr Dorota Milczarek
(d.milczarek@ihar.edu.pl)

Wykonawcy:

dr hab. prof IHAR-PIB Bogdan Flis
dr Anna Przetakiewicz



CELE PROJEKTU

- Wyróżnienie w obrębie ziemniaka o różnych kierunkach użytkowania form o złożonej odporności na mątwiki atakujące ziemniak (*Globodera rostochiensis* i *G. pallida*)
ZREALIZOWANO
- Sprawdzenie możliwości selekcji form odpornych za pomocą markerów molekularnych
ZREALIZOWANO
- Poznanie genetycznych uwarunkowań odporności na mątwika agresywnego zaobserwowanej w gatunku *Solanum gourlayi*
ZREALIZOWANO

MATERIAŁY I METODY

MATERIAŁY

- 3 populacje 4x pochodzące z wykonanego w ramach tematu krzyżowania odmiany Innovator, donora genu *GpaV_{urn}* nadającego odporność na patotypy Pa2/3 *G. pallida*
- 6 populacji 2x pochodzące z wykonanych w ramach tematu krzyżowań spośród których wybrano populację mapującą
- Klony interploidalne

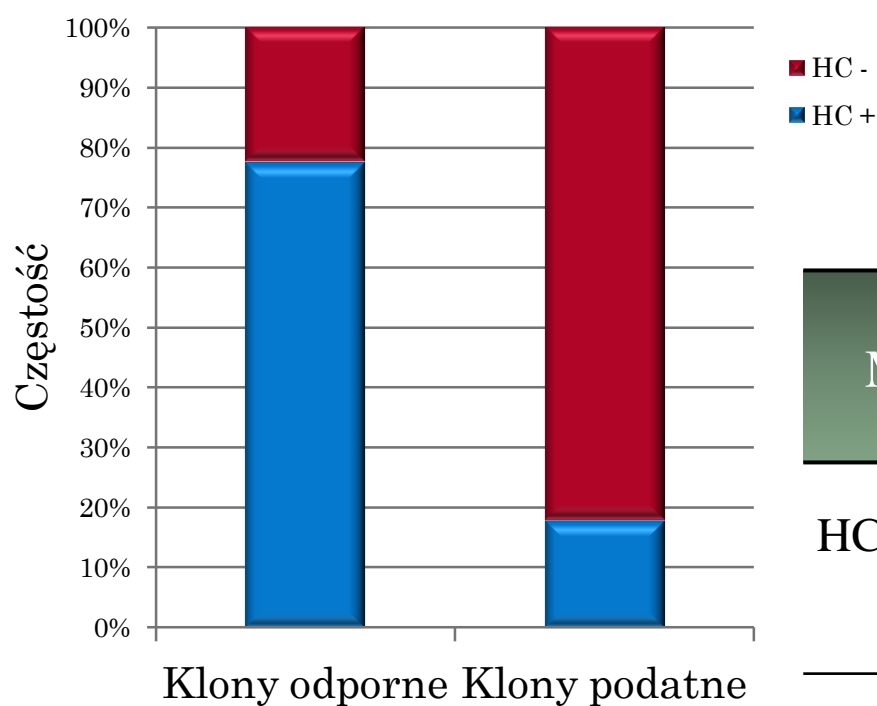
METODY

- Fenotypowa ocena odporności badanych klonów na patotypy *Globodera* spp. zgodna z procedurą EPPO
- Ocena plonu i morfologii bulw klonów 4x
- Selekcja form o złożonej odporności na mątwiki z wykorzystaniem markerów molekularnych
- Analiza DArT-seq populacji mapującej 2x: zbadanie podłoża genetycznego odporności na *G. pallida* znalezionej w *S. gourlayi*

WYNIKI

Badany materiał 4x posłużył do zbadania możliwości selekcji polskich materiałów hodowlanych pod kątem odporności na patotypy Pa2/3 *G. pallida* przy użyciu markera HC genu *GpaV_{vrn}*

Stwierdzono wyraźny związek pomiędzy obecnością markera HC a oceną odporności na patotypy Pa2/3 (dla dokładnego testu Fishera wartość $P < 0.0001$) potwierdzając jego selekcyjność w stosunku do badanej cechy.



Zgodność
80%

Marker		Odporność na patotypy Pa2/3		Σ
		Klony odporne	Klony podatne	
HC	+	79	17	96
	-	23	78	101
Σ		102	95	197

WYNIKI

Materiał 4x zbadano również pod kątem amplifikacji markerów, o potwierdzonej selekcyjności, związanych z genami odporności

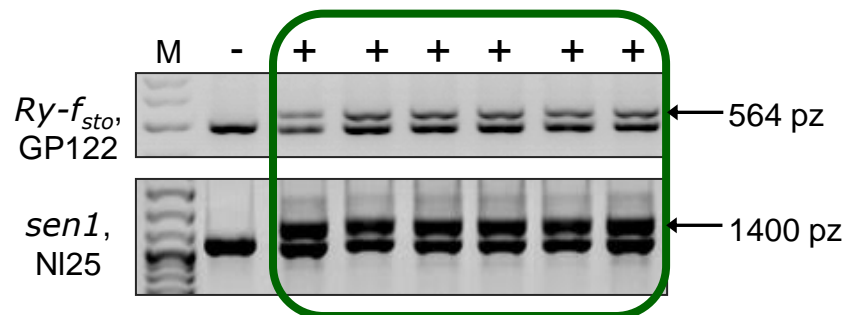
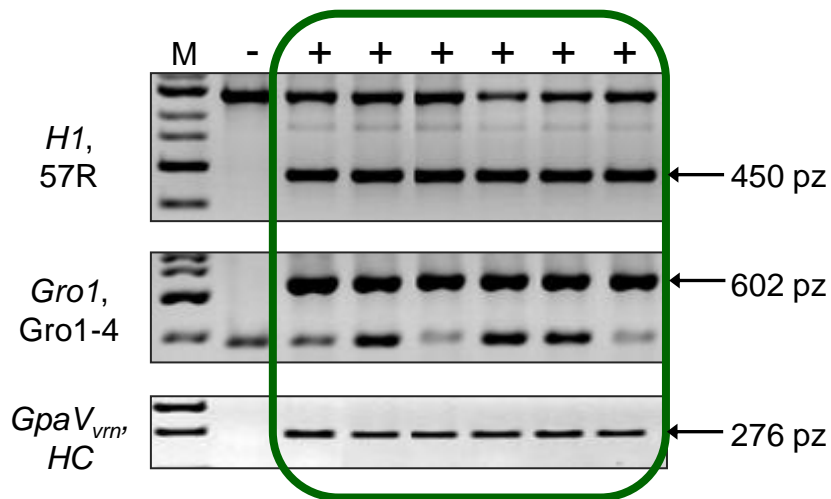
Wykorzystując marker 57R wyselekcjonowano 92 klonów 4x posiadające gen *H1* nadający odporność na patotypy Ro1,4 *G. rostochiensis*

Na podstawie amplifikacji markera Gro1-4 wyselekcjonowano 58 klonów 4x posiadających gen *Gro1-4* nadający odporność na Ro1,5 *G. rostochiensis*

Wybrane, wyróżniające się w ocenie cech jakościowych klonów sprawdzono również pod kątem amplifikacji markerów związanych z genami odporności na wirus Y ziemniaka (*Ry-f_{sto}*) i na raka ziemniaka (*Sen1*).

Sześć klonów wykazało amplifikację markerów 5 genów odporności:

H1, *Gro1-4*, *GpaV_{vrn1}*, *Ry-f_{sto}* i *sen1*

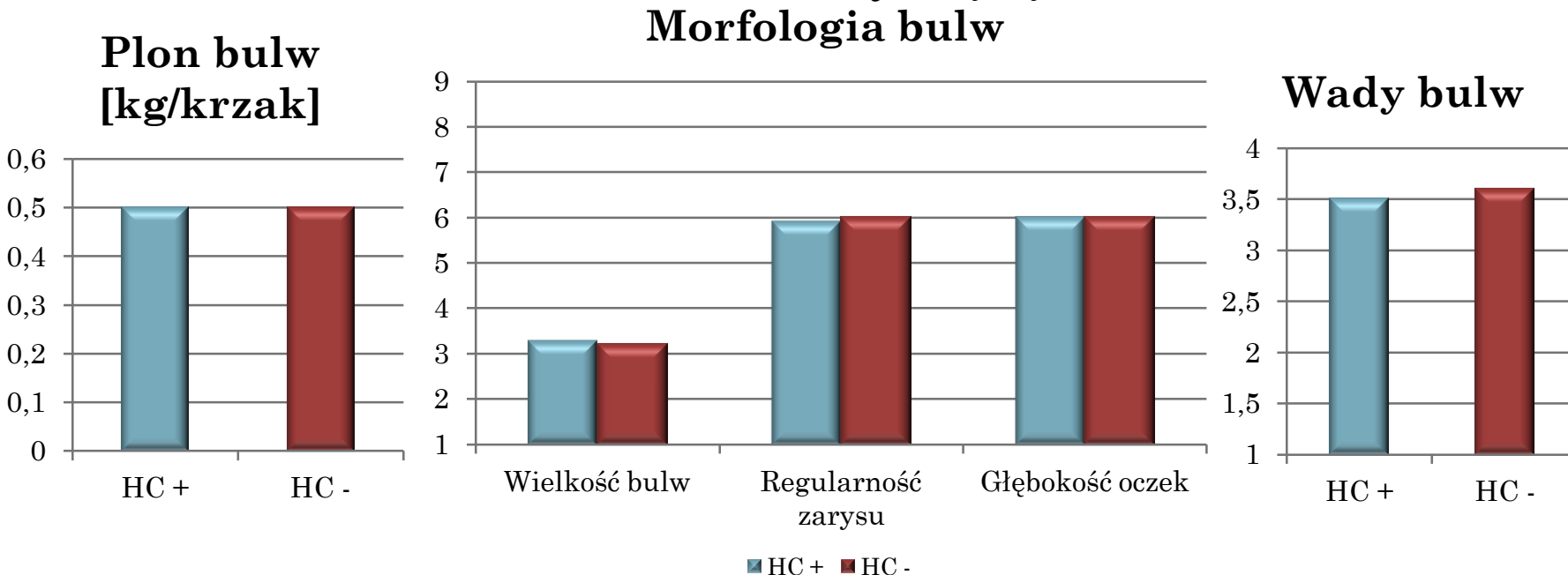


WYNIKI

Materiał 4x badano w doświadczeniach polowych 2016 – 2018

Ocena cech użytkowych wskazuje na dobry poziom plonowania i cech morfologicznych bulw klonów uzyskanych w wyniku krzyżowań form o złożonej odporności na *Globodera* spp.

Poziom plonowania oraz cech morfologicznych bulw klonów z markerem i bez markera HC nie różnił się statystycznie

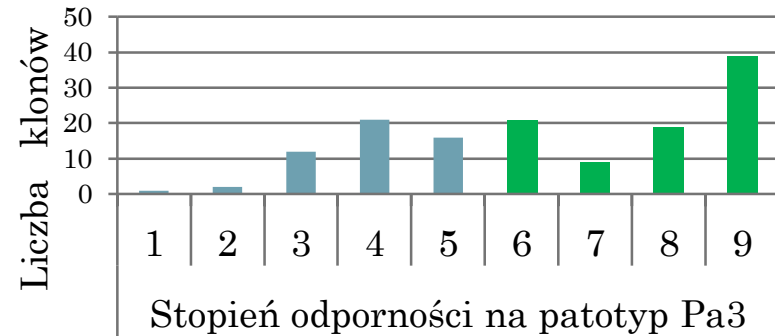
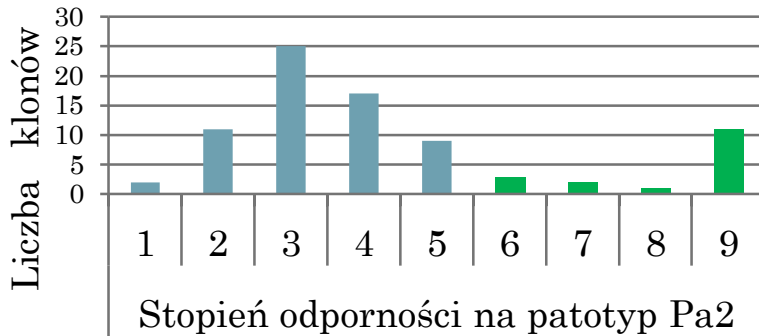


Przeprowadzono również program krzyżowań interploidalnych dla wprowadzenia do puli materiałów 4x odporności z *S. gourlayi*.

Uzyskano finalnie jeden klon interploidalny Inter-2 o potwierdzonej odporności (Pa2 = st7; Pa3 = st9) wprowadzonej ze źródła *S. gourlayi* (klon Sg2/7)

WYNIKI

Spośród otrzymanych w ramach tematu populacji 2x wybrano populację DW 94-4235 x Sg2/7 na populację mapującą

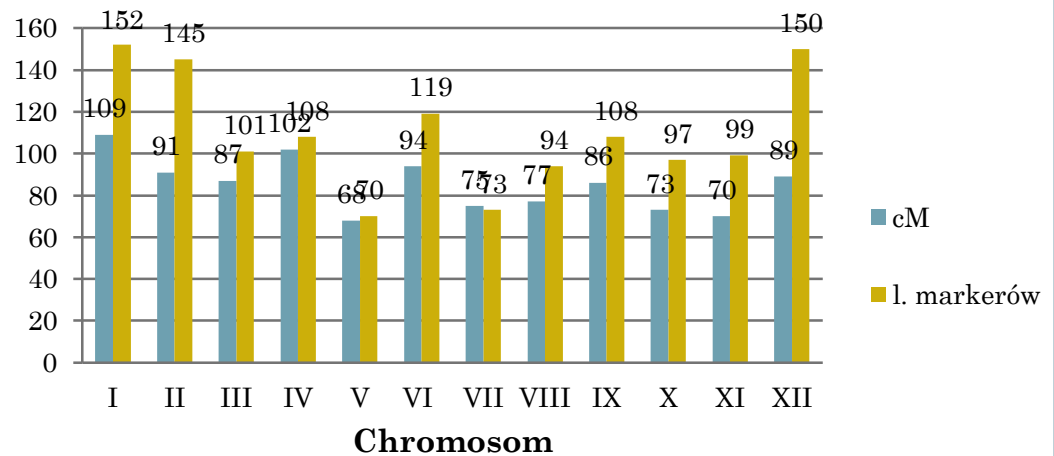


Rozkład odporności na patotypy Pa2 i3 dla populacji DW 94-4235 x Sg2/7

Wykonano analizę DArTseq

Bazując na danych uzyskanych z analizy DArTseq dla populacji mapującej stworzono mapę genetyczną *Solanum gourlayi*. Uzyskana mapa liczy 1316 loci i mierzy łącznie 1021 cM.

Na jej podstawie przeprowadzono analizę QTL.



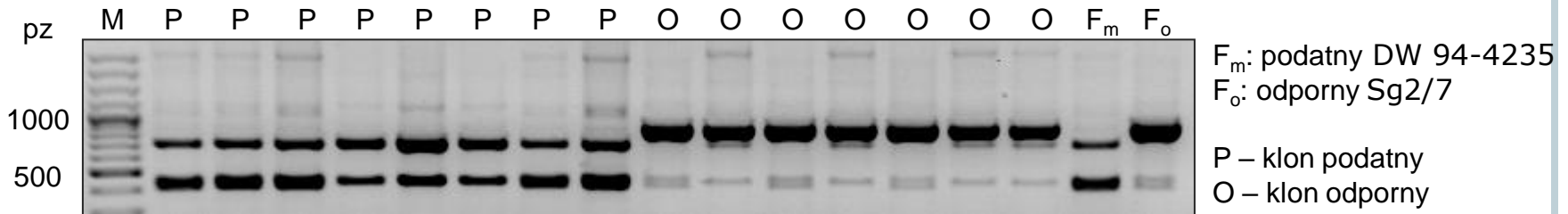
WYNIKI

Analizę QTL przeprowadzono wyznaczając loci na chromosomie XI tłumaczące średnio od 12,9 do 42,3% zmienności w przypadku oceny odporności na patotyp Pa3 *G. pallida*

poz cM na chromosomie	Procent tłumaczonej zmienności	Locus w genomie referencyjnym	Dostępne sekwencje kodują
8,35	13,6	33871864	katalazę
13,21	14,8	5722314	bd
13,211	14,8	33872616c11_5	ekspansynę 9
14,211	14,1	brak danych (bd)	bd
14,219	14,1	7681197	bd
15,219	12,9	bd	bd
61,758	22,3	3710139c11_45	monoksygenazę
62,859	42,3	bd	bd

Na podstawie wytypowanych sekwencji wyznaczono startery PCR, których selekcyjność w stosunku do badanej cechy (odporność na patotyp Pa3) weryfikowano na populacji mapującej.

Marker Exp928 (trawiony RsaI) locus kodującego ekspansynę 9 wykazał zgodność amplifikacji z oceną odporności.



OSIĄGNIĘCIA PROJEKTU

- Stwierdzono selekcyjność markera HC genu $GpaV_{urn}$ w stosunku do odporności na patotypy Pa2/3 *G. pallida*
- Wyselekcjonowano sześć klonów z markerami 5 genów odporności: *H1*, *Gro1-4*, $GpaV_{urn}$, *Ry-f_{sto}* i *sen1*
- Stwierdzono, że selekcja z użyciem markera HC nie ma negatywnego wpływu na poziom cech agronomicznych, oraz że nagromadzenie genów odporności na mątwiki nie wpływa negatywnie na poziom cech agronomicznych
 - Wyselekcjonowano grupę 12 rodów ziemniaka wysokoodpornych na wszystkie patotypy *Globodera* spp., oraz o dobrych cechach agronomicznych
- Bazując na danych uzyskanych z analizy DArTseq dla populacji mapującej stworzono mapę genetyczną *Solanum gourlayi*. Uzyskana mapa liczy 1316 loci i mierzy łącznie 1021 cM
- Przeprowadzono analizę QTL wyznaczając na chromosomie XI loci kodujące ekspansynę 9, oraz uzyskano dla niego marker PCR Exp928, który wykazał zgodność amplifikacji z oceną odporności na patotyp *Pa3 G. pallida*
- Uzyskujano klon interploidalny Inter-2 o potwierdzonej odporności na patotypy Pa2/3 wprowadzonej ze zmapowanego źródła *S. gourlayi*

PUBLIKACJA WYNIKÓW

○ Doniesienia konferencyjne:

Milczarek D., Przetakiewicz A., Flis B. 2017 Odmiany odporne na mątwika sgresywnego: wykorzystanie markerów molekularnych w hodowli, 50 jubileuszowa konferencja naukowo-szkoleniowa „Nasiennictwo i Ochrona Ziemniaka”, Dźwirzyno, 7-9.06.2017, Streszczenia: 70.

Milczarek D., Przetakiewicz A., Flis B. 2018. Wykorzystanie technik molekularnych w hodowli odmian ziemniaka odpornych na mątwika agresywnego. 51 Konferencja naukowo-szkoleniowa „Nasiennictwo i ochrona ziemniaka”, 6-8.06.2018, Dźwirzyno, Streszczenia: 49-51.

○ Publikacje:

Milczarek, D., Tatarowska, B., Plich, J., Podlewska-Przetakiewicz, A., Flis, B. (2020). *Solanum gourlayi* - a source of cyst nematode resistance in potato breeding. *Potato Research* 63: 589–595. IF: 0,929; punkty MEiN: 70

Milczarek, D., Podlewska-Przetakiewicz A., Plich, J., Tatarowska, B., Flis, B. The relations of broad nematode resistance to quality characteristics as a consequence of marker-assisted selection in potato breeding programmes. *Breeding Science* (złożone)

Milczarek, D., Podlewska-Przetakiewicz A., Tatarowska, B., Plich, J., Flis, B. Early selection of potato clones with the *GpaV_{urn}* resistance gene - the relation of nematode resistance to quality characteristics *Agronomy Journal* (złożone)