

Rozprawa doktorska pt.

Zróznicowanie genetyczne i fenotypowe izolatów *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary z ziemniaka *Solanum tuberosum* L. - zbiór 3 publikacji

Marta JANISZEWSKA

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy
Oddział w Młochowie, Zakład Genetyki i Materiałów Wyjściowych Ziemniaka

Promotor: prof. dr hab. Jadwiga ŚLIWKA

STRESZCZENIE

Celem pracy było scharakteryzowanie pod względem fenotypowym i genetycznym izolatów *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary pochodzących z wybranych regionów Polski. Ten grzybopodobny patogen wywołuje jedną z najgroźniejszych pod względem ekonomicznym chorób ziemniaka – zarazę ziemniaka. Charakterystyka izolatów uwzględniała określenie typu kojarzeniowego, haplotypu mitochondrialnego, odporności na środek ochrony roślin - metalaksyl, wirulencji wobec zestawu testerów oraz polimorfizmu 14 markerów SSR.

Oceniono wpływ dominującego systemu uprawy ziemniaka na strukturę populacji *P. infestans* przez porównanie prób izolatów z trzech regionów różniących się pod względem intensywności uprawy ziemniaka z lat 2010 – 2012. Wykazano wysokie zróżnicowanie izolatów *P. infestans*. Zidentyfikowano 299 unikatowych genotypów SSR wśród 365 badanych izolatów, z których 263 genotypy były reprezentowane tylko przez jeden izolat. Analizując izolaty z poszczególnych regionów, wykazano istotny wpływ konwencjonalnego systemu uprawy na strukturę populacji *P. infestans*. W regionie uprawy ziemniaka na dużych, intensywnie chronionych polach zaobserwowano wzrost liczby izolatów *P. infestans* odpornych i średnio odpornych na metalaksyl oraz szerzenie się linii klonalnych.

Przeprowadzona została także weryfikacja działania markerów PCR do identyfikacji typu kojarzeniowego *P. infestans* w porównaniu z klasyczną metodą krzyżowania z izolatami kontrolnymi na szalkach Petriego. Wykorzystano trzy markery molekularne W16, S1 i PHYB. Typ kojarzeniowy był oceniany w dwóch grupach izolatów *P. infestans*: 146 polskich i 25 z różnych krajów, a jako kontroli użyto izolatu *Phytophthora andina*. Wykazano zgodność obu metod w 96% dla markera S1, 95% dla markera W16 i 86% dla markera PHYB. Stwierdzono wśród izolatów *P. infestans* genotypu US-1, który jest typu kojarzeniowego A1, powstawanie produktu markera W16 charakterystycznego dla izolatów o typie kojarzeniowym A2.

Charakterystyka 237 izolatów z jednej miejscowości Boguchwała z lat 2000 – 2014 pozwoliła określić zmiany zachodzące w populacji *P. infestans* w długim okresie czasu. W badaniach oceniono wpływ warunków pogodowych na strukturę populacji patogenu. Zidentyfikowano izolaty *P. infestans* należące do 89 różnych genotypów. Analizy statystyczne wykazały podobieństwo prób izolatów z poszczególnych lat badań. Wykazano przetrwanie izolatów genotypu 34_A1 w następujących po sobie sezonach wegetacyjnych. Obserwacja ta pozwoliła na stwierdzenie w kontekście danych o temperaturze powietrza i opadach, że mroźne zimy i suche lato nie wpływają na strukturę populacji *P. infestans*.

Wyniki uzyskane w ramach pracy doktorskiej przyczyniły się do pogłębienia wiedzy o populacji *P. infestans* w Polsce. Śledzenie zachodzących zmian i wpływu czynników, które kształtują populację *P. infestans* może wpłynąć na lepsze zrozumienie oddziaływań między patogenem, rośliną i środowiskiem, a także może być przydatne do doskonalenia metod uprawy ziemniaka.

Doctoral thesis entitled
**Genetic and phenotypic diversity of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary
isolates from potato *Solanum tuberosum* L.**
(compilation of publications)

ABSTRACT

The aim of this work was to characterize phenotypically and genetically isolates of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary from selected regions of Poland. This pathogen causes one of the economically most important potato diseases – late blight. To characterize the isolates we determined their mating type, mitochondrial haplotype, sensitivity to metalaxyl, virulence and polymorphism at 14 Simple Sequence Repeats (SSR) loci.

The influence of the dominant potato growing system on the population structure of *P. infestans* was assessed by comparing samples of isolates from three regions differing in terms of the intensity of potato cultivation. The sampling took place in 2010 – 2012. High diversity of *P. infestans* isolates was found. Among 365 tested isolates, 299 unique genotypes were identified, of which 263 genotypes were represented by only one isolate. Analysis of the isolates from particular regions showed significant impact of the conventional cultivation system on the population structure of *P. infestans*. We observed that population in the region of potato cultivation on large, intensively chemically protected fields was more clonal and with an increased number of *P. infestans* isolates resistant and intermediately resistant to metalaxyl.

The verification of the different PCR markers for *P. infestans* mating type determination in comparison to the pairing test with control isolates on a Petri dish was carried out. Three molecular markers W16, S1, PHYB were used. The mating type was evaluated in two groups of *P. infestans* isolates: 146 Polish and 25 from different countries. An isolate of *Phytophthora andina* was used as a control. Isolates were correctly diagnosed for mating type in 96% with S1 marker, in 95% with W16 marker and in 86% with PHYB marker, when compared with the pairing test results. Among the isolates of *P. infestans* of the US-1 genotype, which is of the A1 mating type, the amplification of a product with the W16 marker specific for the A2 mating type isolates was found.

The results of characteristics of 237 isolates from one location Boguchwała from years 2000 – 2014 allowed determining the changes occurring in the population of *P. infestans* over a long period of time. The influence of weather conditions on the structure of the pathogen population was assessed. Isolates of 89 different genotypes were identified. Statistical analyzes showed similarity of isolates from individual years. The survival of 34_A1 genotype isolates was demonstrated in consecutive growing seasons. This observation allowed for the conclusion, in the context of data on air temperature and precipitation, that cold winters and dry summers did not affect the population structure of *P. infestans*.

The results of the thesis increased the knowledge about the *P. infestans* population in Poland. Analysis of the changes and the impact of factors that affect the population of *P. infestans* may contribute to a better understanding of the interactions between the pathogen, plant and the environment, as well as to the improvement of potato cultivation methods.

(-) Marta Janiszewska