

Piotr Kamiński

Autoreferat rozprawy doktorskiej

**„Ocena stabilności plonu i właściwości kulinarnych
bulw ziemniaka odpornego na *Phytophthora infestans*”**

Praca doktorska wykonana
w spółce ‘Hodowla Ziemniaka Zamarte sp. z o. o. – Grupa IHAR’
w Zamartem, woj. kujawsko-pomorskie

Promotor:

dr hab. Bogdan Flis prof. nadzw. IHAR – PIB, Oddział w Młochowie
Zakład Genetyki i Materiałów Wyjściowych Ziemniaka

Recenzenci:

Prof. dr hab. Katarzyna Niemirowicz-Szczytt, SGGW
Prof. dr hab. Zygmunt Kaczmarek, IGR PAN w Poznaniu

Radzików 2016

O wyborze odmiany do uprawy decyduje wysokość plonowania oraz określone cechy jakości i odporności. Czynnikiem niezwykle istotnym może być zdolność odmiany do zachowania wysokiego i stabilnego poziomu określonych cech w zmieniających się warunkach środowiska. Badanie ekspresji cechy w odpowiedzi na kompleksowy wpływ czynników środowiska nazywa się analizą stabilności (Becker i Léon 1988). Efektem takiej analizy jest wybór form charakteryzujących się stabilną ekspresją badanej cechy lub form lepiej przystosowanych do określonych warunków środowiska. Badania stabilności, prowadzone w seriach doświadczeń wielokrotnych i wieloletnich, dotyczą przede wszystkim plonu i jego składowych lub innych cech produktywności roślin (np. plonu skrobi). Analiza stabilności cech jakościowych wykonywana jest sporadycznie.

Modyfikujący wpływ czynników środowiskowych pozwala oczekiwać, że jakość konsumpcyjną bulw odmian ziemniaka można poprawić poprzez zmianę niektórych z tych czynników, na przykład stosując uprawę w systemie ekologicznym. Dużym zagrożeniem dla plantacji ziemniaka w gospodarstwach ekologicznych jest zaraza ziemniaka. Na plantacjach niechronionych straty w plonie spowodowane porażeniem zarazą ziemniaka sięgają nawet 40% (Kapsa 2004). Pomimo wieloletnich starań hodowców, jak dotąd nie uzyskano zadowalającego postępu w odporności odmian na *Phytophthora infestans*, sprawcę zarazy ziemniaka. Trudność w uzyskaniu wysokiej odporności na *P. infestans* wynika przede wszystkim ze zdolności sprawcy choroby do tworzenia nowych ras przełamujących odporność. Problemem jest również związek odporności z długim okresem wegetacji.

Hodowla odpornościowa jest dobrym sposobem walki z zarazą ziemniaka, przyjaznym dla środowiska i tańszym niż ochrona chemiczna, jeśli tylko uzyskana odporność będzie efektywna, trwała i niezwiązana z niekorzystnymi cechami. Postęp w podwyższeniu odporności nowych odmian mogą przynieść badania nad wykorzystaniem genów odporności, niezwiązanych z długim okresem wegetacji, występujących w dzikich gatunkach ziemniaka, jak np. prymitywnie uprawnym gatunku *Solanum phureja* (Śliwka i in. 2013).

HIPOTEZA BADAWCZA

Na podstawie dostępnej wiedzy oraz znajomości materiałów wyjściowych do hodowli ziemniaka postawiono hipotezę, że wysoka odporność na *P. infestans* nie jest skorelowana ze słabym i niestabilnym poziomem plonu i cech konsumpcyjnych ocenianych w różnych środowiskach.

CELE SZCZEGÓŁOWE PRACY

Cele przeprowadzonych badań były następujące:

- Ocena stabilności plonu i wybranych właściwości konsumpcyjnych bulw ziemniaka klonów cechujących się wysoką odpornością na *Phytophthora infestans*, sprawcę zarazy ziemniaka.
- Określenie związku pomiędzy wysoką odpornością na *P. infestans* a poziomem ocenianych cech i ich stabilnością w środowiskach różniących się systemem uprawy.
- Wyselekcjonowanie form odpornych na zarazę ziemniaka, charakteryzujących się stabilnym poziomem ocenianych cech i przydatnością do uprawy w różnych systemach (jako cel praktyczny pracy).

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiło 119 rodów hodowlanych ziemniaka pochodzących z trzech nieselekcyjowanych kombinacji krzyżówkowych oraz 7 odmian wzorcowych. Głównym założeniem programu krzyżowań było uzyskanie potomstwa cechującego się odpornością na zarazę ziemniaka warunkowaną genami z dwóch źródeł, a mianowicie genem *Rpi-phu1* z gatunku *S. phureja* oraz locus odporności z odmiany Sárpo Mira.

Ocena odporności na Phytophthora infestans

Odporność klonów ziemniaka na *P. infestans* oceniano na podstawie identyfikacji czynników genetycznych warunkujących odporność oraz na podstawie wyników testów biologicznych.

W badaniach molekularnych posłużono się markerami sprzężonymi z genami odporności, o opracowanej lub opublikowanej sekwencji starterów. Marker GP94 jest

specyficznym dla allelu genu, łatwym w użyciu, markerem typu STS położonym w odległości 6,4 cM od genu *Rpi-phu1*. Marker *phu6* jest położony w obrębie genu, wobec czego wynik testu PCR powinien być zgodny z wynikami testów listkowych. Marker 45/XI, użyty do oceny materiału z *locus* genu z odmiany Sárpo Mira, wg Tomczyńskiej i in. (2014) wyjaśnia od 55,8% do 67,9% zmienności ocen odporności, w zależności od zastosowanego izolatu *P. infestans*.

Ocena odporności na *P. infestans* wykonana za pomocą testu listkowego została przeprowadzona w oddziale IHAR– PIB, w Młochowie. Do zakażenia listków w testach laboratoryjnych zastosowano dwa izolaty *P. infestans*: MP324 i MP1353. Reakcja testerów Black'a ujawniła w obydwu tych izolatach obecność następujących czynników wirulencji: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11. Izolat MP1353, w przeciwieństwie do izolatu MP324, ma zdolność do przełamania odporności odmiany Sárpo Mira (Tomczyńska i in. 2014), ale żaden nie porażał listków roślin z genem *Rpi-phu1*.

Ocena plonu

Ocenę plonu wykonano na podstawie wyników doświadczeń prowadzonych przez trzy lata, w pięciu miejscowościach położonych w województwie kujawsko-pomorskim. W trzech lokalizacjach zastosowano uprawę metodami konwencjonalnymi. W dwóch miejscowościach uprawa była prowadzona zgodnie z zasadami stosowanymi w uprawie ekologicznej ziemniaka.

Ocena cech kulinarnych

Ocenę typu kulinarnego i smakowitość oznaczono wg tzw. metody europejskiej. Ciemnienie miąższu bulw oceniano na przekroju podłużnym 10 bulw, po 10 minutach i 24 godzinach od ugotowania, według 9-stopniowej, odwróconej skali duńskiej, gdzie 9 oznacza brak ciemnienia, a 1-ciemnienie najsilniejsze.

Ocena długości okresu wegetacji

Długość wegetacji była oceniana na podstawie wizualnej oceny stopnia starzenia się i zasychania naci w skali 9-stopniowej COBORU.

W ramach przedstawionej pracy analizowano interakcję plonu oraz cech kulinarnych ziemniaka (typ kulinarny, smak, ciemnienie mięszu bulw po ugotowaniu) z czynnikami środowiska (systemy uprawy ekologiczny i tradycyjny, odporność na zarazę ziemniaka) dla rodów pochodzących z kombinacji krzyżówkowych, w których formy rodzicielskie wносиły odporność na *P. infestans*. Dane zebrane z doświadczeń poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem pakietu STATISTICA 12 (StatSoft 2015) oraz programu statystycznego SERGEN3 (Caliński i in. 1998). Przeprowadzono następujące obliczenia i analizy statystyczne:

1. Ocenę wstępną, polegającą na obliczeniu wartości średnich lub mediany badanych cech dla rodów i odmian w miejscowościach, latach i kombinacjach krzyżówkowych.
2. Analizę szczegółową zmienności cech kulinarnych i plonu w oparciu o nieparametryczną analizę wariancji – test Kruskala-Wallisa (istotność różnic dla poszczególnych poziomów czynników analizowano za pomocą wielokrotnego testu Kruskala-Wallisa) oraz o analizę wariancji (dla plonu ogólnego) w układzie hierarchiczno-krzyżowym (istotność różnic pomiędzy poziomami czynników analizowano w oparciu o kontrasty Tukeya oraz test Dunnetta dla porównań ze wzorcem).
3. Analizę zmienności badanych cech, w ramach której wykonano ogólną analizę wariancji dla interakcji genotypowo-środowiskowej oraz analizę szczegółową w oparciu o model mieszany Scheffégo-Calińskiego i model regresji łącznej Calińskiego-Kaczmarka, która pozwoliła wnioskować o statystycznej istotności efektów głównych i interakcyjnych w badanych rodach hodowlanych.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Gatunek *S. phureja*, z którego pochodzi gen *Rpi-phu1* jest często wykorzystywany w hodowli ziemniaka jako donor cech jakościowych, choć wysoki poziom horyzontalnej odporności na *P. infestans* był w tym gatunku również notowany. Gen *Rpi-phu1* zidentyfikowano w potomstwie kombinacji *S. stenotomum* × *S. phureja* (Śliwka i in. 2006). Został on zmapowany na IX chromosomie ziemniaka. Odporność warunkowana tym genem jest

szczególnie wartościowa, gdyż zapewnia ochronę przed szerokim spektrum ras *P. infestans* zarówno naci jak i bulw ziemniaka oraz nie jest związana z długim okresem wegetacji.

Drugą formą wnoszącą odporność na *P. infestans* do potomstwa badanych kombinacji była odmiana Sárpo Mira. W odmianie tej zidentyfikowano trzy geny R z *S. demissum*, geny *Rpi-Smira1* i *Rpi-Smira2* (tożsamy z genem R8) (Rietman i in. 2012, Jo 2013) oraz *locus* genu/genów odporności na chromosomie XI (Tomczyńska i in. 2014).

Odporność na *P. infestans*

Badane klony ziemniaka uznano za odporne, gdy wykryto marker genu *Rpi-phu1* i/lub *locus* odporności na *P. infestans* z chromosomu XI odmiany Sárpo Mira, a odporność została potwierdzona w badaniu biologicznym na odciętych listkach. Na podstawie wyników testów w badanym materiale wyodrębniono cztery rodzaje osobników (rodów): I) osobniki bez odporności, II) osobniki z *locus* odporności na chromosomie XI odm. Sárpo Mira, III) osobniki z genem *Rpi-phu1* i IV) osobniki z obydwoma *loci* odporności. Osobniki z grup 'II', 'III' i 'IV' były odporne. Różniły się one poziomem i spektrum odporności, zaś w grupach osobników 'II' i 'IV', a także w zbiorze osobników podatnych ('I') segregowały inne geny odporności odmiany Sárpo Mira (*R3a*, *R3b*, *R4*, *Rpi-Smira2*). Miały one jednak niewielki wpływ na wyniki testów listkowych, gdyż stosowane izolaty *P. infestans* posiadały czynniki wirulencji odpowiadające genom *R3a*, *R3b* i *R4*, natomiast efekt genu *Rpi-Smira2/R8* jest niewykrywalny w testach listkowych wg Rietmana i in. (2012) oraz Jo (2013). W dalszych analizach stosowano podział badanego materiału na grupę rodów podatnych i odpornych.

Związek odporności na *P. infestans* z długością wegetacji

Wyniki obserwacji długości okresu wegetacji form z genem *Rpi-phu1*, wykonane w ramach przedstawionej pracy, pozwoliły przyporządkować te rody do grupy wczesnych i średniowczesnych. Krótki okres wegetacji badanych rodów potwierdza tezę o braku sprzężenia genu *Rpi-phu1* z czynnikami genetycznymi warunkującymi długi okres wegetacji ziemniaka (Śliwka i in. 2006). Średnia długość okresu wegetacji rodów z *locus* odporności z odmiany Sárpo Mira była nieistotnie dłuższa od długości wegetacji form ze zidentyfikowanym genem *Rpi-phu1*. Stwierdzono, że istnieje możliwość wyselekcjonowania odmiany odpornej na zarazę ziemniaka, o krótkim okresie wegetacji.

Stabilność plonu

Spośród 126 badanych genotypów wyróżniono 34 rody i odmiany plonujące w sposób stabilny w sensie rolniczym, z czego 8 cechowało się plonami istotnie wyższymi od średniej ogólnej, 11 – plonowało na poziomie średniej, a 15 – istotnie poniżej średniej ogólnej. Pozostałe badane rody i odmiany (92 formy) okazały się niestabilne pod względem plonu ogólnego. Wśród rodów i odmian niestabilnych znaczącą większość stanowiły formy, których plonowanie w różnych środowiskach było nieprzewidywalne (85 form).

*Stabilność plonu a odporność na *P. infestans**

Analizując związek efektu głównego dla plonu, stabilności plonu i odporności na zarzę ziemniaka stwierdzono, że rody o najwyższym efekcie głównym dla plonu (10 najplenniejszych rodów), odporne na zarzę ziemniaka, wykazały istotną interakcję ze środowiskiem, czyli były niestabilne w badanych środowiskach pod względem wysokości plonu.

W badanym potomstwie trzech kombinacji krzyżówkowych nie stwierdzono występowania zależności pomiędzy odpornością na *P. infestans* a częstością występowania form o istotnej lub nieistotnej interakcji genotypowo-środowiskowej. Udział rodów plonujących stabilnie wyniósł 26,5% – w grupie rodów odpornych i nie był znacząco różny od ich udziału w grupie rodów podatnych (27,8%). Wśród rodów stabilnych, o najwyższym efekcie głównym dla plonu, były zarówno odporne jak i podatne na zarzę ziemniaka.

Badanie związku odporności na *P. infestans* ze stabilnością plonu przeprowadzone dla potomstwa kombinacji krzyżówkowych wykazało, że w kombinacji 'Sárpo Mira × 03.3827' stwierdzono największy udział form odpornych na zarzę ziemniaka i jednocześnie stabilnych pod względem plonu bulw spośród badanych kombinacji (11 rodów z 46 badanych= 23,9%). Najmniej liczne takie formy były w kombinacji 'Lord × 03.3817' (5 rodów z 36 badanych= 13,9%). Stwierdzono jednak, że najplenniejsze rody, stabilne i jednocześnie odporne na zarzę ziemniaka pochodziły z kombinacji 'Lord × 03.3817'.

Wszystkie cechy kulinarne analizowane w przeprowadzonych eksperymentach były cechami wyrażonymi w skali nominalnej lub porządkowej. Ponieważ cechy te mają charakter cech typowo jakościowych, zarówno w sensie merytorycznym jak i statystycznym, to analizując ich stabilność mamy na myśli stabilność w sensie biologicznym.

W prezentowanej pracy uznano, że cecha przejawia się w sposób stabilny jeśli oceny tej cechy z poszczególnych środowisk różniły się co najwyżej o jedną jednostkę w skali w jakiej oceniano dane cechy. Takie podejście pozwoliło na wskazanie rodów i odmian stabilnych biologicznie pod względem analizowanych cech kulinarnych.

Analiza stabilności poszczególnych cech jakości kulinarniej trzech potomstw wykazała, że dla wszystkich badanych cech występuje w potomstwach przewaga osobników niestabilnych. W badanym materiale najczęściej identyfikowano osobniki stabilne pod względem ciemnienia mięszu bulw po 10 min. (częstość od 33 do 75% osobników z danej kombinacji) niż pod względem pozostałych cech. Osobniki charakteryzujące się stabilnym typem kulinarnym występowały z częstością od 17 do 42%, w zależności od kombinacji. Pod względem smakowitości bulw rodów i odmian frekwencja form stabilnych wynosiła od 8 do 38% i najwyższa była u osobników odpornych na zarazę ziemniaka z kombinacji 'Lord × 03.3817' (9 z 24 badanych rodów). Najmniej stabilnych osobników w poszczególnych kombinacjach odnotowano w cesze ciemnienia po 24 godzinach (od 0 do 8%).

Stwierdzono również, że w kombinacji 'Lord × 03.3817' wystąpiło więcej form stabilnych pod względem wszystkich badanych cech kulinarnych niż w pozostałych kombinacjach. Forma rodzicielska Lord była stabilna pod względem typu kulinarnego i smaku bulw. Porównanie stabilności cech kulinarnych u osobników odpornych i podatnych na *P. infestans* wykazało, że pomiędzy tymi grupami nie ma istotnych różnic w częstości występowania osobników charakteryzujących się stabilną ekspresją cech kulinarnych. Natomiast ważnym wnioskiem z przeprowadzonych analiz jest, że potomstwo stabilnych form rodzicielskich okazało się bardziej stabilne od potomstwa form niestabilnych.

Wyselekcjonowane rody hodowlane

Na podstawie ocen odporności na *P. infestans*, wyników analizy interakcji genotypowo-środowiskowej dla plonu oraz cech kulinarnych spośród badanych rodów hodowlanych wyselekcjonowano 4 rody cechujące się wysokim, stabilnym plonowaniem, korzystnymi właściwościami kulinarnymi bulw oraz odpornością na zarazę ziemniaka. Charakterystykę wyselekcjonowanych rodów przedstawiono w Tabeli 1.

Tabela 1. Charakterystyka wyselekcjonowanych rodów hodowlanych.

| Numer rodu | Kombinacja krzyżówkowa | Źródło odporności | | Wczesność | Ocena morfologii bulw Skala 1-9 | | | Ocena cech kulinarnych Skala 1-9 | | | | |
|------------|------------------------|-------------------|---------------|-----------|------------------------------------|-------------|-----------|-------------------------------------|---------------|-------------|--------------------|-----|
| | | Gen | Locus | | Kształt bulw | | Oczka | Wygląd bulw | Typ kulinarny | Smak 1-9 | Ciemnienie miąższu | |
| | | <i>Rpi-phul</i> | <i>Smiral</i> | | typ | regularność | głębokość | | | | C1 | C2 |
| '9' | Sárpo Mira × 03.3817 | 1 | 1 | św | oow | 7 | 6,5 | 7 | AB-B | 7,0 | 8,7 | 8,0 |
| '105' | Lord × 03.3817 | 1 | 0 | w-św | o | 7 | 6,5 | 7,3 | A-B | 7,3 | 9,0 | 8,0 |
| '130' | Lord × 03.3817 | 1 | 0 | wcz | o | 7,2 | 6,5 | 5 | AB-BC | 7,0 | 8,5 | 7,5 |
| '133' | Lord × 03.3817 | 1 | 0 | wcz | oow | 6,9 | 6,7 | 7 | A-B | 7,0 | 8,5 | 7,5 |

Oznaczenia: Wczesność: wcz – wczesne, św – średnio wczesne. C1- ciemnienie miąższu bulw po 10 min.; C2- ciemnienie miąższu bulw po 24 godz.

Skala 9-stoniowa ocen morfologii bulw, wyglądu i ciemnienia miąższu, gdzie 9-oznacza ocenę najwyższą. Typ kształtu bulw: o – okrągły, oow – okrągło-owalny.

Typ kulinarny A-sałatkowy, B -ogólnoużytkowy, BC -lekko mączysty.

Kolorem zielonym zaznaczono oceny stabilnych cech kulinarnych.

1. Analiza zmienności plonu bulw pozwoliła stwierdzić, że nie obserwowano obniżenia plonu spowodowanego wprowadzeniem czynników genetycznych warunkujących odporność na *P. infestans*.
2. Na wysokość plonu istotny wpływ miała interakcja pomiędzy badanymi rodami i odmianami a latami badań, lokalizacjami oraz kombinacją rok × lokalizacja. Stwierdzono, że:
 - a. częstość występowania form stabilnych pod względem plonu nie jest związana z odpornością na zarazę ziemniaka warunkowaną genami z dwóch źródeł;
 - b. formy stabilne pod względem plonu występują znacznie rzadziej niż formy plonujące niestabilnie, a więc prowadzenie selekcji pod kątem najwyższych plonów połączonych z odpornością na zarazę ziemniaka może prowadzić do wyboru form o niestabilnej ekspresji plonu;
 - c. na plon bulw i jego stabilność kluczowy wpływ ma dobór form rodzicielskich zarówno odpornych jak i podatnych na zarazę ziemniaka.
3. Nie stwierdzono istotnego związku odporności na *P. infestans* ze smakowitością i ciemnieniem miąższu bulw badanych odmian i rodów ziemniaka. Średnie oceny tych cech były takie same dla rodów odpornych na zarazę ziemniaka jak i dla rodów podatnych.
4. Źródło genu odporności na zarazę ziemniaka z prymitywnie uprawnego gatunku *S. phureja* jest donorem czynników genetycznych związanych z dobrym poziomem cech kulinarnych (smaku i ciemnienia miąższu bulw gotowanych).
5. Stwierdzono, że uprawa ekologiczna nie pozwala na uzyskiwanie wysokich plonów bulw, ale korzystnie wpływa na smakowitość i zmniejsza intensywność ciemnienia bulw badanych rodów i odmian.
6. Badanie stabilności cech kulinarnych wykonane w ramach pracy, poprzez zastosowane metody statystyczne, jest unikatowym podejściem do analizy cech jakościowych ziemniaka.

7. Na podstawie wykonanych analiz wyróżniono formy reagujące stabilnie (w sensie biologicznym) na zmienne środowisko pod względem smaku, typu kulinarnego oraz ciemnienia miąższu bulw gotowanych po 10 minutach i 24 godzinach.
 - a. Najwyższe częstości form stabilnych stwierdzono dla ciemnienia miąższu po 10 minutach. Pod względem smakowitości bulw rodów i odmian, frekwencja form stabilnych wynosiła od 8 do 38% i najwyższa była u osobników odpornych na zarazę ziemniaka z kombinacji 'Lord × 03.3817'.
 - b. Porównanie grup osobników odpornych i podatnych na *P. infestans* wykazało, że pomiędzy tymi grupami nie ma istotnych różnic w częstości występowania osobników charakteryzujących się stabilną ekspresją cech kulinarnych.
8. Na podstawie wykonanych analiz można stwierdzić, że efektywność selekcji ukierunkowanej na połączenie plenności z odpornością na *P. infestans* zależy od kombinacji form rodzicielskich użytych do krzyżowania. Wyższa frekwencja osobników o dobrych i stabilnych właściwościach kulinarnych pochodzących z kombinacji 'Lord × 03.3817', niż w pozostałych kombinacjach krzyżówkowych może świadczyć o wysokiej wartości kombinacyjnej odmiany Lord.
9. Stwierdzono, że gen *Rpi-phu1* i locus odporności z odmiany Sárpo Mira nie są sprzężone z długim okresem wegetacji. W potomstwach form z tak uwarunkowaną odpornością możliwe jest selekcjonowanie rodów odpornych na zarazę ziemniaka charakteryzujących się krótszą wegetacją.
10. Stwierdzono, że użycie markerów molekularnych jest efektywną metodą wyróżniania form odpornych na zarazę ziemniaka już na wczesnych etapach hodowli. Zastosowanie markerów położonych blisko genu (lub w genie) może być jedyną techniką do identyfikacji czynnika genetycznego warunkującego daną cechę. Zastosowana technika jest jak dotąd bezprecedensową metodą selekcji hodowlanej w polskiej hodowli roślin.
11. Na podstawie ocen odporności na *P. infestans*, wyników analizy stabilności plonowania i cech kulinarnych wyselekcjonowano 4 rody plonujące stabilnie powyżej średniej ogólnej. Wybrane rody cechują się odpornością na zarazę ziemniaka, średnią długością okresu wegetacji, dobrym smakiem bulw i nieciemniejącym miąższem. Ważnymi cechami agronomicznymi, które wzięto pod uwagę były cechy morfologii bulw, występowanie wad zewnętrznych i wewnętrznych, odporność na choroby

wirusowe w czasie wegetacji i choroby przechwalnicze. Jeden z tych rodów (oznaczony jako ZAH23515) został w roku 2016 zgłoszony do urzędowych badań rejestrowych COBORU.

LITERATURA

1. Becker H.C., Léon J. 1988. Stability analysis in plant breeding. *Plant Breed.* 101: 1-23.
2. Caliński T., Czajka S., Kaczmarek Z., Krajewski P., Siatkowski I. 1998. Podręcznik użytkownika programu SerGen 3. Instytut Genetyki Roślin PAN w Poznaniu.
3. Jo K.R. 2013. Unveiling and deploying durability of late blight resistance in potato from natural stacking to cisgenic stacking. PhD Thesis. Mapping of the *S. demissum* late blight resistance gene *R8* to a new locus on chromosome IX. Chapter 2: 25-42. Wageningen University. The Netherlands.
4. Kapsa J. 2004. Zmiany stanu zagrożenia i ochrony plantacji ziemniaka przed zarazą (*P. infestans*) w Polsce na tle krajów europejskich. *Prog. Plant Prot.* 44 (1): 129-137.
5. Rietman H., Bijsterbosch G., Cano L.M., Lee H.R., Vossen J.H., Jacobsen E., Visser R.G., Kamoun S., Vleeshouwers V.G. 2012. Qualitative and quantitative late blight resistance in potato cultivar Sárpo Mira is determined by the perception of five distinct RXLR effectors. *Mol. Plant Microbe Interact.* 25: 910-919.
6. Śliwka J., Jakuczun H., Lebecka R., Marczewski W., Gebhardt C., Zimnoch-Guzowska E. 2006. The novel, major locus *Rpi-phu1* for late blight resistance maps to Potato chromosome IX and is not correlated with long vegetation period. *Theor. Appl. Genet.* 113: 685-695.
7. Śliwka J., Świętek M., Tomczyńska I., Stefańczyk E., Chmielarz M., Zimnoch-Guzowska E. 2013. Influence of genetic background and plant age on expression of the potato late blight resistance gene *Rpi-phu1* during incompatible interactions with *Phytophthora infestans*. *Plant Pathology* 62: 1072-1080.
8. Tomczyńska I., Stefańczyk E., Chmielarz M., Karasiewicz B., Kamiński P., Jones J.D.G., Lees A.K., Śliwka J. 2014. A locus conferring effective late blight resistance in potato cultivar Sárpo Mira maps to chromosome XI. *Theor. and Appl. Genetics* 127: 647-657.

