

Ocena płodności pyłku i odporności na bakterie *Dickeya solani* diploidalnych mieszańców międzygatunkowych *Solanum*.

R. Lebecka, E. Zimnoch-Guzowska, I. Wasilewicz-Flis

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – PIB, Oddział w Młochowie

Bakterie pektynolityczne powodują dwie choroby ziemniaka: czarną nóżkę ziemniaka i mokrą zgniliznę bulw ziemniaka. W latach dziewięćdziesiątych XX w. z chorych bulw i roślin ziemniaka izolowano wyłącznie bakterie z rodzaju *Pectobacterium*. Obecnie w Europie Zachodniej rozprzestrzeniły się w uprawach ziemniaków bakterie z rodzaju *Dickeya*: *D. dianthicola* i *D. solani* (Toth i in. 2011, van der Wolf i in., 2014). Bakteria *D. solani* w Holandii powoduje straty rzędu 30 milionów Euro rocznie (Sławiak i in., 2009a). W Polsce bakteria ta została po raz pierwszy wyizolowana w 2005 r., a w ostatnich latach występuje w coraz większej liczbie województw (Sławiak i in., 2009b). Bakterie *Dickeya* spp. mogą powodować choroby ziemniaka rozpoczynając infekcję roślin z niższego poziomu inokulum, silniej kolonizują roślinę i są bardziej agresywne od innych bakterii pektynolitycznych (Czajkowski 2013; Toth i in. 2011).

Przedstawione w tej pracy wyniki są wstępem projektu, którego celem jest zidentyfikowanie genów/*loci* cech ilościowych odporności na bakterie *Dickeya solani* w populacji mapującej ziemniaka diploidalnego, scharakteryzowanie reakcji odpornościowej bulw i roślin 2x mieszańców międzygatunkowych ziemniaka w zależności od temperatury oraz zbadanie zdolności do systemicznej kolonizacji wysokoodpornej rośliny ziemniaka przez bakterie *D. solani* i możliwości przenoszenia tej infekcji na bulwy potomne. Prezentowane wyniki obejmują (a) ustalenie warunków testowania odporności bulw ziemniaka na bakterie *D. solani*, (b) ocenę odporności bulw diploidalnych (2x) mieszańców międzygatunkowych *Solanum* oraz (c) określenie ich płodności w celu wybrania form rodzicielskich populacji mapującej.

MATERIAŁ I METODY

Materiałem badanym były: odmiany ziemniaka, Głada i Gandawa (ocena 5 w skali 9 stopniowej, gdzie 9 = najodporniejszy), Irys (ocena 3), Sonda

oraz 40 2x mieszańców *Solanum* – 26 odpornych i 14 podatnych w uprzednich badaniach odporności na bakterie *Pectobacterium* (Lebecka i in., 2013), 6x mieszańiec somatyczny *S. tuberosum* + *S. brevidens* USA 249, wzorzec wysokiej odporności na bakterie z rodzaju *Pectobacterium*.

Do badań użyto szczepu IFB0099 z gatunku *D. solani*, z kolekcji bakterii Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Akademii Medycznej w Gdańsku.

Do zranienia w bulwie wprowadzano 10 µl inokulum (ok. 10^8 jtk*ml⁻¹), a otwór zaklejano wazeliną. Bulwy zraszano wodą i szczelnie zamykano w pojemnikach. Po okresie inkubacji zgniłą tkankę ważono w bulwach krojonych wzdłuż miejsca inokulacji, lub mierzono średnicę zgniłej tkanki.

Inokulowane bakteriami bulwy odmian ziemniaka były przechowywane w czterech różnych warunkach: w temp. 30°C - 2 dni, 26°C - 3 dni, 23°C - 4 dni, 20°C - 6 dni. Doświadczenie przeprowadzono w dwóch terminach. W każdym doświadczeniu testowano po 10 bulw czterech odmian, w dwóch powtórzeniach.

Test dla form odpornych na bakterie *Pectobacterium* przeprowadzono w trzech terminach, w każdym terminie testowano po 10 bulw z każdego klonu i po 20 bulw wzorców. Bulwy klonów podatnych testowano w jednym terminie, po 10 bulw każdego klonu.

Pyłek zebrany z kilku dojrzałych kwiatów paru roślin barwiono kwaśną laktofuksyną. Określono procentowy udział wybarwionych na kolor ciemnoróżowy, niezdeformowanych ziaren pyłku, przy powiększeniu 200x, w kilku polach widzenia, wśród 100 - 200 ziaren (Wasilewicz-Flis, 2011).

WYNIKI

Trzyczynnikowa analiza wariancji wykazała istotny wpływ odmiany, warunków testu oraz ich interakcji na cechę badaną. Termin testu nie miał istotnego wpływu na średnią porażenia. Nasilniejsze porażenie bulw wystąpiło w temperaturze 26°C po trzech dniach inkubacji. Podatna odmiana Irys była istotnie najsilniej porażona we wszystkich temperaturach, z wyjątkiem temperatury 20°C, gdzie średnie porażenie odmiany Irys nie różniło się istotnie od porażenia odmian Gandawy i Głady. W temperaturze 20°C porażeniu uległo 28,8 % testowanych bulw, w temperaturze 23°C – 76,9%. W 30°C porażeniu uległy wszystkie bulwy, podobnie w temperaturze 26°C, w której jedna bulwa ze 160 testowanych nie uległa porażeniu. Do testowania odporności diploidalnych mieszańców wybrano temperaturę 26°C i trzy dni inkubacji.

24 mieszańce *Solanum* charakteryzowały się wysoką odpornością na *D. solani* a średnia porażenia masy tkanki klonów wynosiła od 0,01 do 2,00 g. Średnia odmiany Irys wynosiła 12,94 g, odmiany Głada – 4,69 g, dwa klony diploidalne nie różniły się istotnie od odmiany Głada, a średnia porażenia masy tkanki tych klonów wynosiła odpowiednio 4,81 g i 2,35 g.

Formy podatne na bakterie *Pectobacterium* uległy zróżnicowanemu porażeniu bakteriami *D. solani*, od słabego do silnego. Podatna odmiana Irys uległa najsilniejszemu porażeniu, średnia wynosiła 28,0 mm. Kolejnym silnie porażonym klonem był DG07-104, którego porażenie wynosiło 22,5 mm.

Wszystkie klony 2x posiadały płodny pyłek, a średnia płodność wynosiła 65%. Pyłek wybarwiony przynajmniej w 30% jest uważany za płodny i może być efektywnym zapylaczem w programie krzyżowań (Wasilewicz-Flis, 2011).

Agresywność bakterii *D. solani* rośnie wraz z temperaturą w badanym przedziale temperatur od 20°C do 30°C. Do krzyżowania i otrzymania populacji mapującej wybrano klon diploidalny DG 00-270 - wysokoodporny na bakterie *D. solani* w teście inokulacji bulw. Poszukiwanie form podatnych jest w trakcie realizacji, dotychczasowymi kandydatami są klony DG07-104 i DG08-305.

LITERATURA

- Czajkowski R., de Boer W.J., van der Zouwen P.S., Kastelein P., Jafra S., de Haan E.G., den Bovenkamp G.W., van der Wolf J.M., 2013. Virulence of '*Dickeya solani*' and *Dickeya dianthicola* biovar-1 and -7 strains on potato (*Solanum tuberosum*). Plant Pathol 62:597–610
- Lebecka R., Jakuczun H., Wasilewicz-Flis I., Zimnoch-Guzowska E. 2013. Ziemniaki diploidalne źródłem wysokiej odporności na bakterie *Pectobacterium atrosepticum*. Progress in plant protection/Postępy w ochronie roślin 53 (2) 403-417
- Sławiak M., van Beckhoven J.R.C.M., Speksnijder A.G.C.L., Czajkowski R., Grabe G., van der Wolf J.M., 2009a. Biochemical and genetical analysis reveal a new clade of biovar 3 *Dickeya* spp. strains isolated from potato in Europe. Europ J Plant Pathol 125: 245-261
- Sławiak M., Łojkowska E., van der Wolf J.M., 2009b. First report of bacterial soft rot on potato caused by *Dickeya* sp. (syn *Erwinia chrysanthemi*) in Poland. Plant Pathol 58: 794
- Toth I.K., van der Wolf J.M., Saddler G., Łojkowska E., Helias V., Pirhonen M., Tsrör (Lahkim) L., Elphinstone J.G., 2011. *Dickeya* species: an emerging problem for potato production in Europe. Plant Pathol 60: 385-399
- Wasilewicz-Flis I. 2011. Oceny cytologiczne stosowane w pracach hodowlano-genetycznych nad ziemniakiem. Ziemniak Polski 1: 1-5
- van der Wolf, J.M., Nijhuis E.H., Kowalewska M.J., Saddler G.S., Parkinson N., Elphinstone J.G., Pritchard L., Toth I.K., Łojkowska E., Potrykus M., Waleron M., de Vos P., Cleenwerck I., Pirhonen M., Garland L., Hélias V., Pothier J.E., Pflüger V., Duffy B., Tsrör L., Manulis S., 2014. *Dickeya solani* sp. nov., a pectinolytic plant-pathogenic bacterium isolated from potato (*Solanum tuberosum*) Int J Syst Evol Microbiol 64:768–774
- Praca jest częścią projektu finansowanego przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi p.t.: Badania ekspresji i genetyczna charakterystyka odporności na bakterie *Dickeya solani* w wyróżnionych źródłach odporności w ziemniaku na poziomie diploidalnym.