

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

Dr hab. Bogdan Flis
Dr Dorota Milczarek
IHAR-PIB, Oddział Młochów

Zadanie nr 60

Temat 1
Ocena odporności klonów z populacji 2x na patotypy *G. pallida*

- Materiał i metody**
- Klony z wybranej diploidalnej populacji mapującej DW 94-4235 Sg 2/7
 - Ocena odporności na *G. pallida*.
 - Klony, które wytworzyły do 5 bulw oceniono pod kątem odporności na patotyp Pa3.
 - Pozostałe klony przetestowano pod kątem odporności na patotypy Pa2 i Pa3.
 - Test przygotowano w 2-10 powtórzeniach dla kombinacji klon/patotyp.
 - Testy odporności wykonano zgodnie z procedurą EPPO (OEPP/EPPO Biuletyn 2006). Próby przeprowadzono na pojedynczej bulwie w doniczce o pojemności 1 litra z glebą zawierającą żywe cysty nicieni. Rośliny po posadzeniu rosły w szklarni przez 6 tygodni. Po tym okresie zliczono cysty z każdej doniczki.
 - Dla każdego klonu otrzymano wartości względnej podatności (tj. w odniesieniu do podatnego wzorca), które przekształcono na 9-stopniową skalę, gdzie 9 oznacza najwyższy stopień odporności.

- Wyniki i wnioski**
- Odporność na patotyp Pa2 *G. pallida*:
 - bulwy 10 klonówgniły podczas testu, a 28 klonów wytworzyło bardzo zredukowany oraz mocno opóźniony w stosunku do kontroli system korzeniowy. Wyniki dla nich uzyskane, jako niemiarodajne zostały pominięte w ogólnej analizie
 - Oceny odporności uzyskano dla 89 klonów:**

Populacja 2x DW 94-4235 × Sg2/7	Stopień odporności na patotyp Pa2								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	23	36	12	3	7	8	0	0	0

- Odporność na patotyp Pa3 *G. pallida*:
 - bulwy 12 klonówgniły podczas testu a 19 klonów wytworzyło bardzo zredukowany oraz mocno opóźniony w stosunku do kontroli system korzeniowy. Wyniki dla nich uzyskane, jako niemiarodajne zostały pominięte w ogólnej analizie
 - Oceny odporności uzyskano dla 102 klonów:**

Populacja 2x DW 94-4235 × Sg2/7	Stopień odporności na patotyp Pa3								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	7	12	16	23	37	7	0	0	0

- Segregacja odporności w wytypowanej diploidalnej populacji mapującej pozwoli na zbadanie podłoża genetycznego odporności pochodzącej z *S. gourlayi*.

Temat 2
Charakterystyka populacji tetraploidalnych o złożonej odporności na patotypy *Globodera* spp., które posłużą do badań nad przydatnością markerów do selekcji form odpornych na mątwiki oraz wprowadzenie na poziom tetraploidalny odporności ze źródła *Solanum gourlayi*

- Materiał i metody**
- 3 populacje tetraploidalne (łącznie 197 klonów) wysadzono w polu
 - Poletka 7 krzakowe, 2 powtórzenia
 - Zbiór po całkowitym zaschnięciu naci
 - Opisywane cechy:
 - ✓ plon bulw, zawartość skrobi, plon skrobi
 - ✓ wielkość , regularność zarysu, głębokość oczek, kształt i wady bulw.
 - Zabezpieczano DNA do testów PCR w celu uzupełnienia danych dotyczących amplifikacji markerów związanych z genami odporności *H1* i *Gro1-4*.
 - Przeprowadzono program krzyżowań interploidalnych w celu przeniesienia odporności z *S. gourlayi* na poziom tetraploidalny

Wyniki i wnioski
Wyniki przedstawiono w tabelach poniżej.

Średnie wartości dla plonu i ocen cech morfologicznych otrzymane w doświadczeniu polowym 2018 r.											
Forma mateczna	Forma ojcowska	Liczba klonów/o dmian	Plon bulw kg/krzak	Zawartość skrobi %	Plon skrobi q/ha	Wielkość		Kształt (1-6)	Regularność zarysu (1-9)	Głębokość oczek (1-9)	Wady bulw (1-4)
						bulw (1-9)					
11-VIII-86	Innovator	89	1,11	12,5	78,8	4,5		3,6	5,5	5,9	2,2
11-VIII-90		68	1,06	14,0	84,2	4,2		3,9	5,7	6,0	2,3
11-VIII-96		40	1,01	13,0	74,4	4,0		3,6	6,2	6,6	2,6
Średnia badanych rodów			1,07	13,1	79,8	4,3		3,7	5,7	6,0	2,7
Odmiany wzorcowe		4	1,43	12,1	94,9	4,8		2,8	6,0	6,4	1,8

Średnie oceny cech dla klonów ze zidentyfikowanym markerem (+) w porównaniu z klonami bez markera

Marker	Amlifikacja	Liczba klonów	Plon bulw kg/krzak	Zawartość skrobi %	Plon skrobi (q/ha)	Wielkość		Regularność zarysu	Głębokość oczek	Wady bulw
						bulw	Kształt			
HC	+	96	1,13	12,8	82,6	4,4	3,7	5,5	6	2,3
	-	100	1,02	13,4	77,2	4,2	3,7	5,8	6,1	2,3
57R	+	92	1,04	13,2	78,4	4,4	3,7	5,7	6,1	2,3
	-	104	1,1	13	81,1	4,2	3,7	5,7	6	2,3
Gro1-4	+	58	0,99	13,7	77,7	3,9	3,6	5,9	6,2	2,4
	-	49	1,1	13,4	84,1	4,3	4	5,8	6,2	2,5

Oceny w skali 1 – 9, 9 oznacza największe bulwy, najbardziej regularny zarys kształtu bulw, najpłytsze oczka;
Ocena w skali 1 – 4, 4 oznacza brak wad, tj. brak wtórnego wzrostu i/lub kiełkowania i/lub spekań
Ocena w skali 1 – 6, 1 oznacza kształt okrągło-skrócony, 6 oznacza kształt podłużny

Statystycznie istotne różnice pomiędzy grupami

- Badane klony pochodzące z krzyżowań form o złożonej odporności na *Globodera* spp. charakteryzowały się niższym plonem bulw i plonem skrobi w porównaniu do odmian wzorcowych. Obserwowane zakresy ocen cech wskazują, że jest możliwe wytypowanie spośród nich klonów o wysokim poziomie badanych cech i jednocześnie odpornych na patotypy *Globodera* spp.
- Wyselekcjonowano 10 klonów, posiadających markery Gro1-4 genu Gro1-4, 57R genu H1 oraz marker HC genu *GpaVvrn*, o dość dobrym poziomie cech użytkowych, co potwierdza możliwość selekcjonowania materiałów o złożonej odporności na patotypy *Globodera* spp. za pomocą markerów molekularnych.
- Porównanie średnich wartości cech pomiędzy grupą klonów, w których stwierdzono amplifikację markera, a grupą bez markera pozwoliło stwierdzić różnice między tymi grupami jedynie dla markera HC (klony z markerem miały wyższy plon, niższą skrobię i słabszą regularność zarysu bulw w porównaniu do grupy bez markera) i dla markera Gro1-4 (różnice dotyczyły kształtu i wielkości bulw).
- Uzyskano 23 jagody po krzyżowaniu klonu 11-VIII-86 z formą diploidalną Sg 2/7, co wskazuje na możliwość wprowadzenia odporności z *S. gourlayi* na poziom tetraploidalny.

Temat 3
Analizy diploidalnej populacji mapującej

- Materiał i metody**
- na 4-krzakowych poletkach prowadzono rozmnożenie 133 klonów z populacji mapującej DW 94-4235 x Sg 2/7.
 - Analiza DArT prowadzona za pomocą programu JoinMap®.

- Wyniki i wnioski**
- W 2018 roku otrzymano wyniki genotypowania nieselekcjonowanej populacji wysokowydajną metodą DArTseq wykonaną przez Diversity Array Technology, Pty Ltd. (Canberra, Australia). Metoda ta jest połączeniem wcześniej opracowanej metody DArT z sekwencjonowaniem nowej generacji (next generation sequencing). Otrzymano wyniki dla ponad 82 tysięcy markerów.
 - Trwa analiza i opracowywanie wyników genotypowania (np. usuwanie markerów niepolimorficznych dla rodziców populacji mapującej, usuwanie markerów, które nie segregowały w potomstwie, ustalanie kryterium liczby dopuszczalnych braków danych) w celu przygotowywania danych do stworzenia mapy genetycznej.
 - Otrzymano materiał bulwowy do dalszych prac z klonami populacji mapującej.