

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 60.

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

Kierownik zadania: *mgr D. Milczarek*

Cel zadania:

Celem głównym zadania jest poznanie genetycznych uwarunkowań odporności na mątwiki zaobserwowanej w gatunku *S. gourlayi* oraz wyróżnienie w obrębie ziemniaka o różnych kierunkach użytkowania form o złożonej odporności na mątwiki atakujące ziemniak (patotypy mątwika ziemniaczanego - *Globodera rostochiensis* i mątwika agresywnego - *G. pallida*).

Celem tematów realizowanych w ramach zadania w 2014 roku była: ocena odporności wybranych form *S. gourlayi* na patotypy Pa1, Pa2 i Pa3 *G. pallida*; uzyskanie populacji diploidalnej, która posłuży do zbadania podłoża genetycznego odporności na mątwika agresywnego (*G. pallida*) zidentyfikowanej w gatunku *S. gourlayi*; otrzymanie populacji tetraploidalnych w wyniku skrzyżowania odmiany Innovator, o podwyższonej odporności na *G. pallida*, z klonami odpornymi na wszystkie patotypy mątwika ziemniaczanego (*G. rostochiensis*), które pochodzą z kolekcji IHAR-PIB w Młochowie. Populacje te posłużą do zbadania możliwości selekcji polskich materiałów hodowlanych pod kątem odporności na patotypy Pa2 i Pa3 *G. pallida* przy użyciu markera HC.

Materiały i metody:

W 2014 roku w ramach tematu przeprowadzono ocenę odporności na wszystkie patotypy mątwika agresywnego dziewięciu klonów diploidalnych. Testy odporności zostały wykonane zgodnie z procedurą EPPO. Próby zostały przeprowadzone na pojedynczych bulwach w doniczkach o pojemności 1 litra z glebą zawierającą żywe cysty nicieni. Test został wykonany w pięciu powtórzeniach dla każdej kombinacji klon/patotyp. Rośliny po posadzeniu rosły w szklarni przez sześć tygodni. Po tym okresie liczono cysty z każdej doniczki. Stosunek liczby cyst z badanego klonu do liczby cyst z podatnej odmiany kontrolnej stanowi o stopniu odporności danego genotypu. Odporność na nicienie jest oceniana w skali 9-cio stopniowej, gdzie 9 oznacza najwyższy stopień odporności.

Wykonano również program krzyżowań form diploidalnych i tetraploidalnych. Wszystkie wybrane do krzyżowań rośliny zostały przetestowane pod kątem obecności patogenów kwarantannowych: PSTVd i CMS. Test na obecność wiroida wrzecionowatości bulw ziemniaka (PSTVd) został wykonany wg. procedury zatwierdzonej jako Standard EPPO w 2003-09. Test na obecność bakterii *Clavibacter michiganensis* (Cms) został wykonany zgodnie z procedurą dla testu immunofluorescencyjnego (IF). Ze zdrowych bulw przygotowano rośliny do krzyżowań w formie szczepień na podkładkach z psianki i pomidora. Rośliny odmiany Innovator, stanowiącej formę ojcowską w krzyżowaniach 4x, pozyskano z kolekcji *in vitro*, posadzono w formie ukorzenionych sadzonek i pozostały niezaszczepione. W celu przedłużenia okresu kwitnienia rośliny prowadzono na 1-2 pędy. W trakcie kwitnienia pyłek zebrano, zabezpieczono oraz oceniono pod kątem płodności. Zabezpieczono DNA wszystkich wykorzystanych form rodzicielskich. Formy tetraploidalne zostały sprawdzone pod kątem amplifikacji markera PCR HC.

Wyniki i dyskusja:

Potwierdzono bardzo niski stopień odporności (1) na wszystkie trzy badane patotypy *G. pallida* pięciu form rodzicielskich wytypowanych do wykorzystania w krzyżowaniach jako podatne formy mateczne. Natomiast dla czterech form rodzicielskich wytypowanych jako odporne formy ojcowskie odnotowano zróżnicowanie odporności na wszystkie patotypy *G. pallida*, zarówno jakościowe, jak i ilościowe. Każdy z badanych klonów charakteryzował się podwyższoną odpornością na jeden z badanych patotypów. Klon DG 06-28 charakteryzował się umiarkowanym stopniem odporności na patotyp Pa1. Klon DG 90-1 wykazywał umiarkowany stopień odporności na patotyp Pa2. Klony DG 92-227 i DG 90-245 charakteryzowały się umiarkowanym i umiarkowanym do wysokiego stopniem odporności na patotyp Pa3. Odnotowane zróżnicowanie odporności na różne patotypy mątwika

agresywnego pomiędzy klonami oraz różny stopień tej odporności (5, 6) może wskazywać na poligeniczny charakter odporności. Odporność na *G. pallida* w większości obecnie scharakteryzowanych źródeł odporności ma charakter ilościowy, przy odpowiednim połączeniu genów odporności o małych efektach można jednak uzyskać genotypy charakteryzujące się zwiększoną odpornością.

Badania odporności na *G. pallida* wybranych klonów potwierdziły ich przydatność jako form rodzicielskich do uzyskania populacji mapującej. Wybrane diploidalne klony ojcowskie charakteryzowały się płodnością pyłku od 50% do 80%. Trzy z nich wytwarzają również ziarna pyłku o niezredukowanej liczbie chromosomów. W wyniku przeprowadzonego programu krzyżowań uzyskano łącznie 78 jagód. Liczba jagód uzyskanych z krzyżowań wyniosła od 1 do 26 dla poszczególnych kombinacji krzyżówkowych. Uzyskano jagody z następujących kombinacji: 26 jagód z krzyżowania DG 06-1082 x DG 90-1, 17 jagód z krzyżowania DG 92-4862 x DG 06-28, 11 jagód z krzyżowania DW 94-4235 x DG 06-28, 7 jagód z krzyżowania DW 94-4235 x DG 90-1, 5 jagód z krzyżowania DG 88-9 x DG 92-227, po 4 jagody z krzyżowań DG 06-1007 x DG 06-28 i DG 92-4862 x DG 92-227, 2 jagody z krzyżowania DG 92-4862 x DG 00-908 oraz po 1 jagodzie z krzyżowań DW 94-4235 x DG 92-227 i DW 94-4235 x DG 00-908. Z trzech kombinacji krzyżówkowych otrzymano liczbę jagód wskazującą na możliwość otrzymania odpowiednio licznej populacji mapującej (26, 17, 11).

Wykonano również krzyżowania tetraploidalne z udziałem 4 form rodzicielskich. Celem krzyżowań było otrzymanie populacji, które posłużą do zbadania możliwości selekcji polskich materiałów hodowlanych pod kątem odporności na patotypy Pa2 i Pa3 mątwika agresywnego (*G. pallida*) przy użyciu markera HC. Wykorzystanie markerów DNA do selekcji pozwala na potwierdzenie obecności genów odporności na bardzo wczesnym etapie hodowli. Z utrzymanej w polu kolekcji 41 klonów o złożonej odporności na patotypy mątwika ziemniaczanego (*G. rostochiensis*) i/lub mątwika agresywnego (*G. pallida*) wybrano trzy klony o wysokiej odporności na wszystkie patotypy *G. rostochiensis*, a podatne na *G. pallida*, jako formy mateczne. Formą ojcowską była odmiana Innovator o podwyższonej odporności na patotypy Pa2 i Pa3 *G. pallida*. Potwierdzono obecność markera HC w odmianie Innovator i jego brak w wybranych do krzyżowań formach matecznych. Pyłek formy ojcowskiej był płodny w 50%. Liczba jagód uzyskanych z krzyżowań wyniosła od 18 do 34 dla poszczególnych kombinacji krzyżówkowych. Otrzymano łącznie 72 jagody. Otrzymana liczba jagód pozwoli na uzyskanie populacji wystarczająco licznych by możliwe było przetestowanie możliwości selekcji form o podwyższonej odporności na *G. pallida* za pomocą markera HC.

Wnioski:

1. Badania odporności na *G. pallida* klonów pochodzących po *S. gourlayi* wykazały zróżnicowanie zarówno jakościowe jak i ilościowe. Aby potwierdzić uzyskane wyniki test zostanie powtórzony w kolejnym sezonie.
2. Badania odporności na *G. pallida* wybranych klonów potwierdziły ich przydatność jako form rodzicielskich do uzyskania populacji mapującej.
3. Otrzymana z przeprowadzonego programu krzyżowań 2x liczba jagód dla poszczególnych kombinacji krzyżówkowych powinna być wystarczająca do wytypowania populacji mapującej, która posłuży do zbadania podłoża genetycznego odporności pochodzącej z *S. gourlayi*.
4. Obecność markera HC w odmianie Innovator oraz jego brak w wytypowanych formach matecznych potwierdza ich przydatność jako form rodzicielskich do stworzenia populacji, które posłużą do sprawdzenia możliwości wykorzystania markera HC do selekcji form odpornych na *G. pallida* w polskich materiałach hodowlanych.
5. Otrzymana z przeprowadzonego programu krzyżowań 4x liczba jagód pozwoli na uzyskanie populacji wystarczająco licznych by możliwe było przetestowanie możliwości selekcji form o podwyższonej odporności na *G. pallida* za pomocą markera HC.