

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

dr Dorota Milczarek

Cel zadania

Celem 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 2016 roku było: a) Przeprowadzenie oceny odporności wybranych klonów diploidalnych i tetraploidalnych na patotypy *G. pallida*; b) Wysiew nasion otrzymanych z krzyżowań uzupełniających 2x 2015 i wyprowadzenie populacji siewkowych. Wybór diploidalnej populacji mapujacej, która pozwoli na poznanie genetycznych uwarunkowań odporności na mątwiki zaobserwowanej w gatunku *S. gourlayi* i wysłanie DNA do analizy DARt; c) Przeprowadzenie doświadczenia polowego z udziałem materiałów tetraploidalnych: ocena plonu bulw, ich morfologii oraz zawartości skrobi. Selekcja form o złożonej odporności na mątwiki będzie częściowo prowadzona z wykorzystaniem diagnostycznych markerów molekularnych. Wytypowanie komponentów rodzicielskich do wprowadzenia odporności ze źródła *Solanum gourlayi* na poziom tetraploidalny.

Materiały i metody

W 2016 roku w ramach tematu przeprowadzono ocenę diploidalnych (2x) i tetraploidalnych (4x) klonów ziemniaka pod kątem odporności na patotypy Pa2 i Pa3 *Globodera pallida*. 72 klony 4x oraz 25 klonów 2x, które wytworzyły od 12 do 16 bulw zostało przetestowanych pod kątem odporności na patotyp Pa3 *G. pallida*. 33 klony 4x oraz 33 klony 2x, które wytworzyły 17 i więcej bulw zostało przetestowanych pod kątem odporności na patotypy Pa2 i Pa3 *G. pallida*. Test przygotowano w pięciu powtórzeniach dla kombinacji klon/patotyp.

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. Rośliny po posadzeniu rosły w szklarni przez sześć tygodni. Po tym okresie liczone 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, w której 9 oznacza najwyższy stopień odporności.

Klony, dla których wykonano fenotypową ocenę odporności przetestowano pod kątem obecności markera HC genu *GpaV_{vm}*. Klony, dla których ustalono obecność markera HC oraz wykazano odporność na patotyp Pa3 w teście fenotypowym, przebadano pod kątem obecności markera 57R genu *H1*.

Przeprowadzono również doświadczenie polowe z udziałem klonów tetraploidalnych. Oceniano cechy takie jak: plon, zawartość skrobi, plon skrobi, wielkość bulw, kształt, regularność zarysu i głębokość oczek.

Wykonano także pilotażowy program krzyżowań interploidalnych z wykorzystaniem dziesięciu form rodzicielskich (odmian i klonów) w celu wytypowania komponentów rodzicielskich do krzyżowań interploidalnych 2017, mających na celu wprowadzenie odporności z *Solanum gourlayi* na poziom tetraploidalny. Ze zdrowych bulw, przetestowanych na obecność patogenów kwarantannowych: PSTVd i CMS, przygotowano rośliny do krzyżowań w formie szczepień na podkładkach z psianki i pomidora. W celu przedłużenia okresu kwitnienia rośliny prowadzono na 1-2 pędy. W trakcie kwitnienia pyłek zebrano, zabezpieczono oraz oceniono pod kątem płodności.

W polu prowadzono 2 populacje siewkowe 2x uzyskane z krzyżowań uzupełniających 2015. Nasiona wysiano do kuwet napełnionych ziemią z dodatkiem torfu, w uformowane rowki w rozstawie 0,5:3 cm i przysypano piaskiem. Uzyskane siewki przepikowano do doniczek i przeniesiono na zewnątrz w celu aklimatyzacji. Pod koniec maja siewki wysadzono w polu w rozstawie 28:62,5 cm. W trakcie trwania sezonu wegetacyjnego zebrano liście w celu zabezpieczenia materiału DNA. Po całkowitym zaschnięciu naci zebrano wszystkie klony 2x, które wytworzyły bulwy. W polu namnożono również materiał bulwowy dwóch populacji linii siewkowych uzyskanych z krzyżowań 2014

Wyniki i dyskusja

W ramach tematu przeprowadzono ocenę odporności diploidalnych (2x) i tetraploidalnych (4x) klonów ziemniaka na patotypy Pa2 i Pa3 mątwika agresywnego (*Globodera pallida*). Spośród 105 testowanych klonów 4x 53 klony były odporne na patotyp Pa3, natomiast spośród 33 testowanych klonów 4x 14 klonów było odpornych na patotyp Pa2. Odporność przetestowanych klonów tetraploidalnych mieściła się w zakresie od 1 do 9, co pozwoli na określenie selekcyjności markera HC w stosunku do klonów odpornych na patotypy Pa2/3 w badanych populacjach. Istotne jest bowiem ustalenie przydatności markerów molekularnych do oceny materiałów hodowlanych pochodzących z różnych pul genetycznych.

W praktyce hodowlanej korzystne jest łączenie genów odporności na mątwiki. Kumulacja genów odporności (łączenie genów nadających odporność na różne patogeny) zapewnia odporność na szerokie spektrum szkodników. Natomiast piramidyzacja genów odporności (łączenie genów nadających odporność na ten sam patotyp) utrudnia powstawanie wirulentnych ras patogenów. Istotne jest więc poszukiwanie nowych nie wykorzystanych dotąd źródeł odporności. Spośród klonów diploidalnych, przetestowanych pod kątem odporności na patotyp Pa3 41 było odporne na ten patotyp, a spośród 33 klonów diploidalnych, przetestowanych pod kątem odporności na patotyp Pa2 17 było odpornych. Odporność przetestowanych klonów diploidalnych mieściła się w zakresie od 1 do 9, a najwięcej klonów odpornych w stopniu 9 odnotowano w populacji DW 94-4235 x DG 90-1.

Przeprowadzono doświadczenie polowe z udziałem klonów tetraploidalnych. Oceniano cechy takie jak: plon, zawartość skrobi, plon skrobi, wielkość bulw, kształt, regularność zarysu i głębokość oczek. Ocena cech użytkowych siewek 4x wskazuje na dobry poziom plonowania i cech morfologicznych bulw klonów uzyskanych w wyniku krzyżowań form o złożonej odporności na *Globodera* spp.

Klony, dla których wykonano fenotypową ocenę odporności przetestowano pod kątem obecności markera HC genu *GpaV_{vm}*. Po wykonaniu pierwszej wstępnej oceny fenotypowej odporności na patotyp Pa3 klonów 4x, można stwierdzić wyraźny związek pomiędzy obecnością fragmentu diagnostycznego markera HC a odpornością roślin na patotyp Pa3 w badanej puli materiałów. Sелеkcyjność markera HC w stosunku do klonów odpornych na patotypy Pa2/3 zostanie ostatecznie potwierdzona po wykonaniu pełnej (dwuletniej) fenotypowej oceny odporności. Klony, dla

których ustalono obecność markera HC oraz wykazano odporność na patotyp Pa3 w teście fenotypowym, przebadano pod kątem obecności markera 57R genu *H1*. Spośród 39 klonów odpornych na patotyp Pa3 posiadających marker HC, 17 klonów posiadało marker 57R. Klony posiadające markery HC i 57R charakteryzowały się dość dobrym poziomem cech agronomicznych, co wskazuje na możliwość wytypowania spośród populacji tetraploidalnych klonów o dobrym poziomie badanych cech połączonych z odpornością na patotypy Ro1 i Ro4 *G. rostochiensis* oraz Pa3 *G. pallida*.

W wyniku przeprowadzenia pilotażowego programu krzyżowań interploidalnych wytypowano dwie formy mateczne, które wiązały owoce po zapyleniu pyłkiem form diploidalnych DG 90-1 i Sg 2/7. Klony PW 363 oraz 11-VIII-86 posłużą w kolejnym sezonie jako formy mateczne w krzyżowaniach interploidalnych mających na celu wprowadzenie odporności z *Solanum gourlayi* na poziom tetraploidalny.

W polu namnożono również materiał bulwowy dwóch populacji linii siewkowych uzyskanych z krzyżowań 2014 oraz wysadzono dwie populacje siewkowe, pochodzące z krzyżowań uzupełniających 2x 2015. Populacja siewkowa DW 94-4235 x Sg 2/7 licząca 183 klony, jako najliczniejsza, została wybrana jako populacja mapująca. DNA z części tej populacji przesłano do analizy DArT. Po wykonaniu w przyszłym roku testów fenotypowych odporności na patotypy *G. pallida* przeprowadzona zostanie analiza genetyczna odporności *Solanum gourlayi*.

Wnioski

1. Odporność przetestowanych klonów tetraploidalnych mieściła się w zakresie od 1 do 9, co pozwoli na określenie selekcyjności markera HC w stosunku do klonów odpornych na patotypy Pa2/3 w badanych populacjach tetraploidalnych.
2. Odporność przetestowanych klonów diploidalnych mieściła się w zakresie od 1 do 9, co pokazuje segregację poszukiwanej cechy w potomstwach wytypowanych odpornych form rodzicielskich i w konsekwencji pozwoli na zbadanie podłoża genetycznego odporności w populacjach diploidalnych.
3. Ocena cech użytkowych siewek 4x wskazuje na dobry poziom plonowania i cech morfologicznych bulw klonów uzyskanych w wyniku krzyżowań form o złożonej odporności na *Globodera* spp. oraz możliwość wytypowania spośród nich klonów o wysokim poziomie badanych cech połączonych z odpornością na patotypy *Globodera* spp.
4. Stwierdzono wyraźny związek pomiędzy obecnością fragmentu diagnostycznego markera HC a odpornością roślin na patotyp Pa3 *G. pallida* w badanej puli materiałów. Sелеkcyjność markera HC w stosunku do klonów odpornych na patotypy Pa2/3 *G. pallida* pochodzących z krzyżowania odmiany Innovator z klonami pochodzącymi z puli polskich materiałów hodowlanych zostanie ostatecznie potwierdzona po wykonaniu pełnej (dwuletniej) fenotypowej oceny odporności dla klonów z badanych populacji tetraploidalnych.
5. Spośród 39 klonów odpornych na patotyp Pa3 posiadających marker HC, 17 klonów posiadało marker 57R, co potwierdza możliwość wyselekcjonowania wśród badanych materiałów klonów o złożonej odporności na patotypy *Globodera* spp. za pomocą markerów molekularnych.
6. Klony PW 363 oraz 11-VIII-86 wiązały jagody po zapyleniu pyłkiem form diploidalnych DG 90-1 i Sg 2/7 i mogą posłużyć w kolejnym sezonie jako formy mateczne w krzyżowaniach interploidalnych mających na celu wprowadzenie odporności z *Solanum gourlayi* na poziom tetraploidalny.
7. Wybrano populację DW 94-4235 x Sg 2/7 jako populację mapującą. DNA z części tej populacji przesłano do analizy DArT. Po uzyskaniu w przyszłym roku danych dla pozostałej grupy klonów potomnych, oraz wykonaniu testów fenotypowych odporności na patotypy *G. pallida* przeprowadzona zostanie analiza genetyczna odporności *Solanum gourlayi*.

8. Współczynnik namnożenia bulw materiałów diploidalnych wskazuje na uzyskanie dla populacji DW 94-4235 x Sg 2/7 wystarczającej liczby bulw na przeprowadzenie testów odporności w kolejnym sezonie.