

MALGORZATA JEDRYCZKA

JOANNA KACZMAREK

JOANNA MAJKA

JANETTA NIEMANN

EWA JAJOR

WITOLD IRZYKOWSKI

MAREK KORBAS

Instytut Genetyki Roślin Polska Akademia Nauk, Poznań

Kierownik Tematu: prof. dr hab. Małgorzata Jedryczka Instytut Genetyki Roślin Polska Akademia Nauk
ul. Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań, tel. +48 6550200, e-mail: mjed@igr.poznan.pl

Prace zostały wykonane w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi nr HOR.hn.802.18.2018, Zadanie 50.

Zastosowanie konwencjonalnych i molekularnych narzędzi fitopatologicznych w poszukiwaniu źródeł odporności na kiłę kapusty oraz charakterystyka aktualnej populacji patogenu w Polsce

The use of conventional and molecular phytopathological tools in search of resistance sources to clubroot and the characterisation of the current population of the pathogen in Poland

Słowa kluczowe: analiza cytogenetyczna, kiła kapusty, rzepak, odporność, patotyp, *Plasmodiophora brassicae*

IDENTYFIKACJA ŹRÓDEŁ ODPORNOŚCI NA KIŁĘ KAPUSTY W POLSKICH I ŚWIATOWYCH ZASOBACH GENOWYCH

Celem badań było oznaczenie podatności na 6 patotypów *Plasmodiophora brassicae*. Oceniono odporność 305 form, w tym 302 form *Raphanus* sp. i 3 odmian wzorcowych *Brassica napus* i *B. rapa*. Badania prowadzono w warunkach szklarniowych. Pierwszym etapem testów było rozmnożenie ras patogenu, służących do inokulacji. Poszczególne formy wysiewano do gleby o pH 5.8 a po 5 dniach siewki inokulowano zarodnikami patotypów P1A, P1B, P2A, P3A, P4A oraz P5A. Ocenę odporności wykonano w skali 0–4. Przeważająca część form *Raphanus* cechowała się odpornością na kiłę kapusty,

niemniej jednak zaobserwowano bardzo duże zróżnicowanie rozpiętości średniej skali ocen od całkowitej odporności do całkowitego porażenia przez dany patotyp. Najmniej form wykazało się odpornością w przypadku patotypu P1B (159 form), a najwięcej w przypadku patotypu P5A (285 form). Odporność na patotyp P3A wykazało 267 form *Raphanus*, a na patotyp P4A odpornych było 258 form.

IDENTYFIKACJA I CHARAKTERYSTYKA RAS *PLASMODIOPHORA BRASSICAE* W POLSCE

Wykonano analizę stanu zagrożenia plantacji rzepaku kiłą kapusty w Polsce. Wiosną 2018 kiła kapusty wystąpiła na licznych stanowiskach, co było spowodowane warunkami wilgotnościowymi oraz temperaturowymi korzystnymi dla rozwoju choroby, występującymi jesienią 2017 roku. W wielu rejonach wilgotność gleby była w tym czasie wysoka, co sprzyjało znacznemu porażeniu roślin. Warunki agroklimatyczne panujące jesienią 2018, w tym głównie susza trwająca przez cały okres letni, nie sprzyjały terminowym zasiewom i równym wschodom rzepaku. Podczas monitoringu upraw pierwsze objawy infekcji przez *P. brassicae* obserwowano dopiero pod koniec października i dotyczyły one w pierwszej kolejności samosiewów odmian pozbawionych genów odporności na kiłę kapusty. Na stanowiskach, gdzie nie wysiewano odmian rzepaku o podwyższonej odporności kiłą kapusty wystąpiła później niż w poprzednich latach i w znacznie niższym nasileniu. W 2018 roku pobrano z terenu Polski 54 próby roślin i gleby. Badania dotyczyły głównie obszarów północnej i południowej Polski, tj. województwa zachodniopomorskiego, warmińsko-mazurskiego, pomorskiego oraz dolnośląskiego i opolskiego. Rejony te należą do obszarów intensywnej uprawy rzepaku, zagrożonych wystąpieniem kiły kapusty. Badaniami objęto także część Wielkopolski i Polski centralnej (woj. łódzkie). Zastosowano metodyki badawcze, podobnie jak w latach ubiegłych, tj. próby gleby (2 kg z każdego pola) pobierano próbnikiem glebowym Kosiady-Spychalskiego, stosując 10 nakłuć na pole. W badanych próbach wykazano obecność siedmiu patotypów *P. brassicae*, przy czym przeważały i występowały w podobnej proporcji patotypy P1A (24%), P3A (25%), P1B (23%) i P4A (22%). Najrzadziej stwierdzano występowanie patotypu P5A (6%). Podobnie jak w roku ubiegłym na najsilniej porażonych polach przeważał patotyp P1. Obecność *P. brassicae* w badanych próbach potwierdzono analizą Real time PCR. Około jedna piąta izolatów (22%) *P. brassicae* przełamywała odporność występującą w odmianie 'Mendel'. Geny odporności obecne w tej odmianie są więc umiarkowanie przydatne w hodowli odpornościowej rzepaku w Polsce. Nie stwierdzono polimorfizmu sekwencji w regionach rybosomalnych, w regionach kodujących 5,8S, 18S i 28S. Stwierdzono polimorfizm sekwencji ITS1 i ITS2 pomiędzy izolatami nie przystający do podziału na patotypy, w oznaczeniach prowadzonych metodą Somé. Polimorfizm w badanych 50 izolatach polegał na delecji/insercji pojedynczych nukleotydów. Jeden z wariantów sekwencji zdecydowanie dominował obejmując 54% izolatów podczas gdy drugi wariant obejmował 39% izolatów, a trzeci jedynie 7% izolatów. W mikrobiomie glebowym stwierdzono występowanie gatunków grzybów i bakterii stosowanych w kontroli

biologicznej patogenów roślin, a także liczne inne niż *P. brassicae* patogeny, np. grzyby rodzaju *Fusarium*.

PRZENIESIENIE ODPORNOŚCI NA KIŁĘ KAPUSTY Z ODPORNÝCH FORM *BRASSICA*
DO RZEPAKU I CHARAKTERYSTYKA JAKOŚCI NASION WYBRANYCH FORM
MIESZAŃCOWYCH

Celem tematu było otrzymanie potomstwa F_1 mieszańców międzygatunkowych z krzyżowań wybranych odmian rzepaku ozimego z genotypami o potencjalnej odporności na kiłę oraz wyprowadzenie potomstwa F_1BC_1 . Materiał roślinny stanowiły 3 wybrane genotypy z gatunku *B. rapa* o podwyższonej odporności na kiłę oraz 4 odmiany rzepaku ozimego: Anderson, Arsenal, Californium oraz Jet Neuf. Wykonano 421 krzyżowań oddalonych w 12 kombinacjach. Otrzymano 139 łuszczyn (płodność 33,0%). Najwyższą płodność odnotowano w krzyżowaniu *B. napus* cv. *Californium* × *B. rapa* var. *rapa* fodder turnip Jobe (86,9%), a najniższą w kombinacji *B. napus* cv. Jet Neuf × *B. rapa* ssp. *trilocularis* (0%), dla której nie otrzymano żadnych łuszczyn. Podobnie jak płodność, tak i plenność była różna w zależności od kombinacji krzyżowania. W prowadzonych kulturach *in vitro* izolowanych zarodków obserwowano stosunkowo wysoką efektywność, mierzoną liczbą zregenerowanych roślin (90), średnio 41,8% przy zakresie od 0,0% do 94,1%. Efektywność przeprowadzonych krzyżowań wstecznych wyrażona płodnością w przypadku krzyżowanych genotypów była wyższa niż efektywność krzyżowań międzygatunkowych (40,1% i 33% odpowiednio). W tym przypadku na sześć przeprowadzonych kombinacji krzyżowań, zapylonych zostało 132 kwiaty, z czego uzyskano 45 nasion. Analizę zawartości tłuszczu 100 linii mieszańcowych otrzymanych z krzyżowań oddalonych prowadzono metodą Soxhleta i NIRS. Analizę zawartości białka, glukozyolanów i włókna wykonano metodą NIRS. W nasionach analizowanych potomstw mieszańcowych zakres zmienności badanych cech był duży, a średnia zawartość tłuszczu, białka, włókna i glukozyolanów różniła się pomiędzy liniami.

CYTOGENETYCZNA ANALIZA MIESZAŃCÓW *BRASSICA* ODPORNÝCH NA KIŁĘ
KAPUSTY (*P. BRASSICAE*)

Celem prowadzonych badań była identyfikacja chromosomów markerowych u form mieszańcowych *Brassica*, z wykorzystaniem techniki fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH) z sekwencjami markerowymi dla chromosomów *Brassica*. W analizach FISH, z wykorzystaniem sekwencji rDNA (5S i 35S rDNA) jako sondy, materiał roślinny stanowiły różne odmiany *B. oleracea*. Wśród analizowanych 120 genotypów, u 119 roślin potwierdzono obecność 18 chromosomów w komórkach somatycznych, tylko u jednej linii obserwowano wyższą liczbę chromosomów. Zastosowane sondy rDNA pozwoliły na identyfikację wybranych par chromosomów w kariotypie — C4 (niosący *locus* 5S rDNA), C7 i C8 (niosące *loci* 35S rDNA). Mapowanie fizyczne sekwencji rDNA wykazało zmienność w liczbie *loci* tych sekwencji. Wśród analizowanych genotypów obserwowano pięć różnych wzorów rDNA: 2 *loci* 5S rDNA i 4 *loci* 35S

rDNA (najczęstszy wzór), 2 *loci* 5S rDNA i 5 *loci* 35S rDNA; 2 *loci* 5S rDNA i 6 *loci* 35S rDNA, 2 *loci* 5S rDNA i 3 *loci* 35S rDNA oraz 3 *loci* 5S rDNA i 3 *loci* 35S rDNA. Zmiany w liczbie sekwencji 35S rDNA wynikają najprawdopodobniej z amplifikacji sekwencji i przeniesienia jej do chromosomów, które wcześniej nie zawierały sekwencji rDNA (większa liczba *loci* niż spodziewana) lub też powstały na skutek delecji *locus* rDNA w obrębie chromosomu (mniejsza liczba *loci* niż spodziewana).