

DOROTA MILCZAREK**BOGDAN FLIS**

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy, Radzików, Oddział w Młochowie
Kierownik Tematu: dr Dorota Milczarek Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut
Badawczy, Radzików, Oddział w Młochowie, ul. Platanowa 19, 05-831 Młochów, tel. 22 7299248 w. 222,
e-mail: d.milczarek@ihar.edu.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.802.19.2018, Zadanie 60.

**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***

Selection of potato forms with accumulated resistances to nematodes attacking the potato by using conventional and molecular methods. Characterization of a new source of resistance to *Globodera pallida* found in *Solanum gourlayi*

Słowa kluczowe: cechy użytkowe, mapowanie, mątwik, odporność, *Solanum gourlayi*, ziemniak

CEL

Celem zadania jest poznanie genetycznych uwarunkowań odporności na mątwiki, zaobserwowanej w gatunku *Solanum 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 2018 roku była: a) ocena odporności klonów diploidalnej populacji mapującej na patotypy *G. pallida*; b) prowadzenie doświadczenia polowego z udziałem materiałów tetraploidalnych o złożonej odporności na patotypy *Globodera* spp., selekcja form o złożonej odporności z wykorzystaniem markerów molekularnych oraz prowadzenie krzyżowań interploidalnych w celu wprowadzenia

odporności ze źródła *S. gourlayi* na poziom tetraploidalny; c) analiza DArT diploidalnej populacji mapującej.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy obejmował: (a) klony z diploidalnej populacji mapującej DW 94-4235 × Sg 2/7 oraz (b) 197 klonów tetraploidalnych o złożonej odporności na patotypy *Globodera* spp. pochodzących z 3 kombinacji krzyżówkowych. Dla klonów populacji mapującej prowadzono oceny odporności na patotypy Pa2 i/lub Pa3 *G. pallida*. Klony tetraploidalne prowadzono w doświadczeniu polowym (7 krzakowe poletka × 2 powtórzenia) i oceniono plon bulw, zawartość i plon skrobi, morfologię bulw (w skali 1–9, 9 = najlepsze oceny) oraz nasilenie występowania defektów bulw (w skali 1–4, 4 = brak wad).

Prowadzono także polowe rozmnożenie klonów populacji mapującej, uzupełniono dane dotyczące amplifikacji markerów związanych z genami odporności *H1* i *Gro1-4* dla klonów tetraploidalnych oraz przeprowadzono krzyżowania interploidalne w celu przeniesienia odporności z *S. gourlayi* na poziom tetraploidalny (dwie tetraploidalne formy mateczne krzyżowano z diploidalnym klonem Sg 2/7).

WYNIKI

Źródłem genów odporności ziemniaka uprawnego na mątwiki (*Globodera* spp.) są dzikie gatunki *Solanum*, a jednym z nich jest *S. gourlayi*, w którym zaobserwowano podwyższoną odporność na mątwika agresywnego *G. pallida* (Van Soest i in., 1983), ale stopień tej odporności i jej spektrum działania nie są znane. W ramach tematu ustalono odporność na patotypy *G. pallida* wybranych klonów diploidalnych *S. gourlayi*, które wykorzystano do przygotowania populacji diploidalnych (z nich wybrano populację mapującą). W 2018 r. przeprowadzono ocenę odporności na patotypy Pa2 i/lub Pa3 *G. pallida* klonów populacji mapującej, spośród których 15 było odpornych na patotyp Pa2, a 44 klony — na patotyp Pa3. Odporność przetestowanych klonów diploidalnych mieściła się w zakresie od 1 do 6 (przy skali 1–9), co pokazuje segregację poszukiwanej cechy w wytypowanej diploidalnej populacji mapującej.

W doświadczeniu polowym charakteryzowano klony tetraploidalne, a spośród nich selekcjonowano, z użyciem markerów molekularnych, formy o złożonej odporności na *Globodera* spp. Średnie wartości uzyskane dla tych klonów były następujące: plon bulw 1,1 kg/krzak (dla odmian wzorcowych 1,4 kg/krzak), zawartość skrobi 13,1% (14,3% dla odmiany Kuba), plon skrobi 79,8 q/ha (128,3 q/ha dla odmiany Kuba), wielkość bulw 4,3 (odmiany wzorcowe 4,8), regularność zarysu 5,7 (odmiany 6,0), głębokość oczek 6,0 (odmiany 6,4). Wady bulw badanych klonów kształtowały się na poziomie 2,7 (ocena dla odmian 1,8 wynikała ze znacznego nasilenia wzrostu wtórnego). Oceny te wskazują na nieco słabszy poziom cech w porównaniu do wykorzystanych w doświadczeniu odmian wzorcowych. Wśród badanych klonów

były jednak takie, które przewyższały odmiany wzorcowe pod względem plenności i/lub morfologii bulw.

Przeprowadzono porównanie średnich wartości cech pomiędzy grupą klonów, w których stwierdzono amplifikację wybranego markera molekularnego, a grupą bez markera. Różnice stwierdzono jedynie dla markera HC, związanego z genem odporności na patotypy Pa2/Pa3 (klony z markerem miały wyższy plon, niższą skrobię i słabszą regularność zarysu bulw w porównaniu do grupy bez markera) i dla markera Gro1-4, sprzężonego z genem odporności na patotyp Ro1 (różnice między grupami dotyczyły kształtu i wielkości bulw). Dla markera 57R (dla genu odporności na Ro1 i Ro4) nie stwierdzono takich zależności dla żadnej z cech, podobnie jak w poprzednich badaniach (Milczarek i in., 2014).

Wyselekcjonowano 10 klonów posiadających wszystkie trzy stosowane w projekcie markery, tj. HC, Gro1-4 i 57R. Klony te charakteryzowały się dość dobrym poziomem cech agronomicznych, co wskazuje na możliwość wyróżniania klonów o dobrych cechach użytkowych i odpornych na patotypy Ro1 i Ro4 *G. rostochiensis* oraz Pa2/3 *G. pallida*.

Zrealizowano również program krzyżowań interploidalnych. Diploidalna forma ojcowska, klon Sg 2/7 miała płodny pyłek (płodność 70%) i tworzyła duże ziarna pyłku, które są wskaźnikiem męskich gamet o niezredukowanej liczbie chromosomów. Przeprowadzono łącznie 300 zapyleń i uzyskano 29 jagód.

Do mapowania genów odporności wykorzystuje się diploidalne populacje mapujące, które uzyskuje się poprzez krzyżowanie formy odpornej z formą podatną (Gebhardt, 2007). W 2018 roku otrzymano wyniki genotypowania nieselekcjonowanej populacji mapującej 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. Obecnie trwa analiza i opracowywanie tych wyników (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.

WNIOSKI

1. Segregacja odporności w wytypowanej diploidalnej populacji mapującej pozwoli na zbadanie podłoża genetycznego odporności pochodzącej z wykorzystanego źródła — *S. gourlayi*.
2. Wyniki doświadczenia polowego wskazują, że klony uzyskane w wyniku krzyżowań form o złożonej odporności na *Globodera* spp. charakteryzują się nieco niższym poziomem cech użytkowych w porównaniu do odmian wzorcowych. Jednak obserwowane zakresy ocen tych cech wskazują, że jest możliwe wytypowanie spośród nich klonów o wysokim poziomie badanych cech i jednocześnie odpornych na patotypy *Globodera* spp.

3. Nie obserwowano negatywnych związków pomiędzy obecnością genu odporności identyfikowanego markerem molekularnym a poziomem cech użytkowych.
4. Wyselekcjonowano 10 klonów posiadających markery Gro1-4 genu *Gro1-4*, 57R genu *H1* oraz marker HC genu *GpaV_{vrn}* o dość dobrym poziomie cech użytkowych.
5. Uzyskano 29 jagód z krzyżowań interploidalnych (zapyłacz był formą diploidalną Sg 2/7), co wskazuje na możliwość wprowadzenia odporności z *S. gourlayi* na poziom tetraploidalny.
6. Otrzymano wyniki genotypowania populacji nieselekcjonowanej (wyniki dla 82 tys. markerów) i rozpoczęto analizę w celu przygotowywania danych.

LITERATURA

- Gebhardt C. 2007. Molecular markers, maps and population genetics. In: Vreugdenhil D., Bradshaw J., Gebhardt C., Govers F., Mackerron D. K. L., Taylor M. A., Ross H. A. (Eds): Potato biology and biotechnology advances and perspectives. Elsevier, Oxford: 77 — 86.
- Milczarek D., Przetakiewicz A., Kamiński P., Flis B. 2014. Early Selection of potato clones with the H1 resistance gene — the relation of nematode resistance to quality characteristics. Czech J. Genet. Plant Breed., 50: 278 — 284.
- Van Soest L. J. M., Rumpfenhorst H. J., Huijsman C. A. 1983. Resistance to potato cyst-nematodes in tuber-bearing *Solanum* species and its geographical distribution. Euphytica 32: 65 — 74.