

BEATA TATAROWSKA**BOGDAN FLIS****IWONA-WASILEWICZ FLIS**

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy, Oddział w Młochowie

Kierownik Tematu: dr Beata Tatarowska Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut

Badawczy, Oddział w Młochowie, ul. Platanowa 19, 05-831 Młochów, tel. 22 7299087 wew. 222,

e-mail: b.tatarowska@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 61.

Wyróżnianie i charakterystyka tetraploidalnych form ziemniaka odpornych na wirusy M i S ziemniaka z wykorzystaniem selekcji metodami konwencjonalnymi i markerami molekularnymi

Distinguished and characterization of tetraploid forms of potato resistant on PVM and PVS viruses by using conventional methods and marker assisted selection

Słowa kluczowe: odporność, reakcja nadwrażliwości — HR, *Solanum tuberosum*, wirus M ziemniaka, wirus S ziemniaka

Celem projektu jest określenie reakcji form z genem *Rm* pochodzącym z *S. megistacrobolobum* lub *Gm* z *S. gourlayi* na nowe warianty wirusa M ziemniaka oraz poznanie dodatkowych czynników genetycznych warunkujących tę odporność w różnych warunkach środowiskowych przy zastosowaniu ilościowych metod molekularnych. W przypadku odporności warunkowanej genem *Rm* określona zostanie zależność między odpornością, a występowaniem reakcji nekrotycznej. W przypadku wirusa S ziemniaka celem projektu jest ocena wpływu dawki genu na odporność, aby można było stwierdzić, czy uzasadnione jest tworzenie form typu multipleks pod względem genu *Ns* w celu otrzymania form o podniesionej odporności na wirus PVS ziemniaka. W roku 2018 w ramach zadania 61 realizowano cztery tematy badawcze.

TEMAT 1

Rozmnażanie w polu odpornych na PVM rodów ziemniaka z sześciu populacji ze źródłem odporności pochodzącym z *S. megistacrolobum* lub *S. gourlayi* oraz dwóch populacji mających w swym pochodzeniu źródło odporności na PVS z *S. tuberosum subsp. andigena*

Celem tematu było stworzenie kolekcji rodów odpornych na PVM oraz rozmnożenie w polu populacji mających w swym pochodzeniu odporność na PVS.

Wyniki

W ramach tematu rozmnażano w polu 423 rody tetraploidalne mające w swym pochodzeniu gen odporności na PVM pochodzący z *S. megistacrolobum* (*Rm*) oraz 157 rodów tetraploidalnych, mających w swym pochodzeniu gen odporności na PVM pochodzący z *S. gourlayi* (*Gm*) (Miętkiewska, 1999). Po przeprowadzeniu oceny odporności z porażenia wtórnego w testach ELISA (Wasilewicz-Flis, 2001), ocenie cech morfologicznych bulw i wad zewnętrznych, do kolekcji rodów odpornych na PVM wybrano 268 rodów. Z populacji z segregującym genem *Ns* z *S. tuberosum subsp. andigena* zebrano 154 rody, tylko te, które nie uległy porażeniu w testach ELISA (ocena porażenia pierwotnego).

Wnioski

- W kolekcji rodów wysoko odpornych na PVM znalazło się 200 rodów z genem odporności *Rm* oraz 68 rodów z genem *Gm*.
- Rody znajdujące się w kolekcji M zostały ocenione pod kątem odporności na PVM w testach laboratoryjnych, w porażeniu pierwotnym i wtórnym oraz uzyskały pełną charakterystykę cech morfologicznych.
- Genotypy znajdujące się w kolekcji mogą zostać wykorzystane w dalszych pracach hodowlanych, jako formy rodzicielskie w programach krzyżowań.
- Wytypowano 154 rody, które nie uległy porażeniu PVS w ocenie porażenia pierwotnego.

TEMAT 2

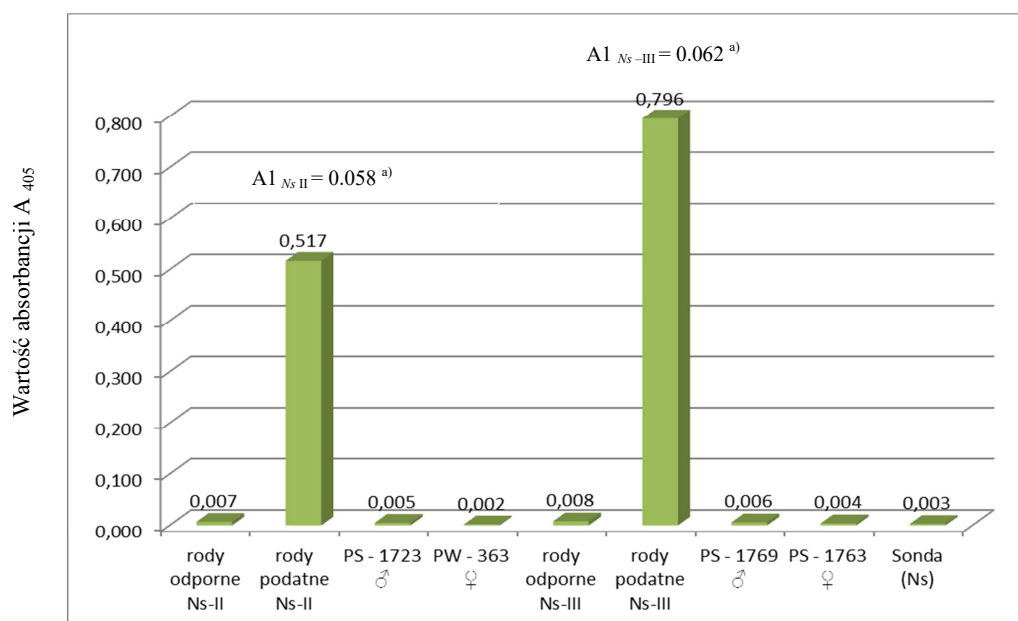
Ocena fenotypowa na wirus S ziemniaka rodów pochodzących z populacji 4x (*Ns*) — inokulacja mechaniczna roślin

Celem tematu była ocena fenotypowa poziomu odporności na wirus S ziemniaka rodów pochodzących z dwóch populacji tetraploidalnych, w których źródłem odporności na PVS był gatunek *S. tuberosum subsp. andigena*.

Wyniki

W ramach zadania 2 przeprowadzono ocenę odporności na PVS rodów pochodzących z dwóch populacji tetraploidalnych. Ocena porażenia pierwotnego pozwoliła wyróżnić rody odporne i podatne na PVS. Średnie wartości absorbancji A_{405} w grupie rodów odpornych, podatnych, wzorców i form rodzicielskich przedstawiono na rysunku 1. Badane rody, które posiadały średnie wartości absorbancji na poziomie lub poniżej wartości granicznej, zostały zaliczone wstępnie do grupy rodów najodporniejszych. Z 200

ocenianych rodów wyróżniono 154, które w porażeniu pierwotnym nie uległy zakażeniu PVS. Porażenie odnotowano dla 46 rodów ziemniaka. Z roślin badanych w roku 2018 zostały zebrane bulwy, aby w przyszłym sezonie ocenić porażenie wtórne.



a) wartość graniczna w teście ELISA dla populacji Ns-II i Ns-III

Rys. 1. Średnie wartości A₄₀₅ dla grupy rodów odpornych i podatnych na PVS z populacji Ns-II i Ns-III, form rodzicielskich i odmiany wzorcowej

Wnioski

- Z populacji Ns-II i Ns-III po ocenie porażenia pierwotnego wyróżniono rody, które nie uległy porażeniu PVS.
- Wytypowano 154 rody wstępnie uznane za odporne na PVS.
- Pomimo wysokich wartości A₄₀₅ w teście ELISA dla rodów podatnych, objawy fenotypowe na liściach roślin ziemniaka nie zawsze były obserwowane.

TEMAT 3

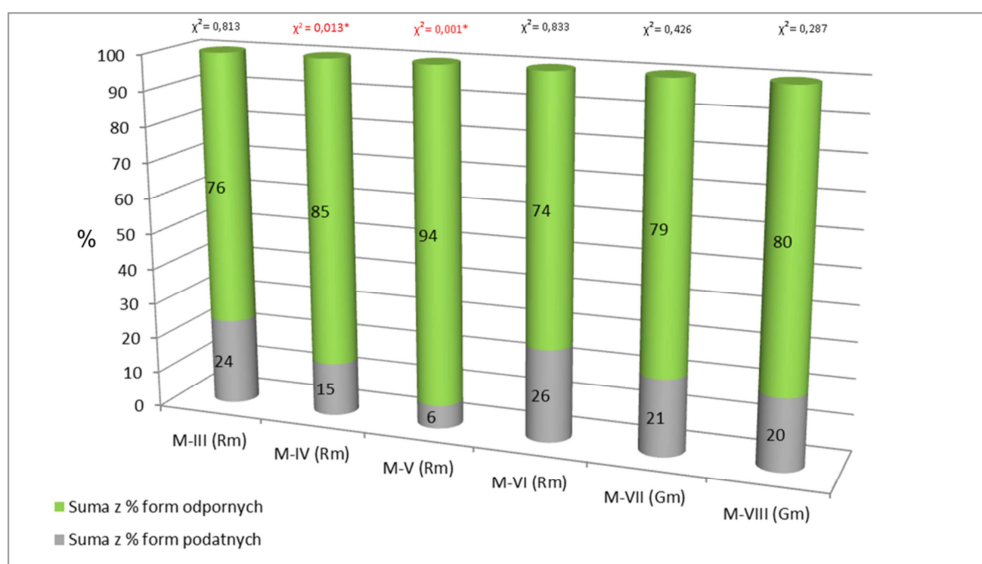
Ocena porażenia wtórnego rodów pochodzących z 6 populacji 4x zakażanych mechanicznie PVM w poprzednim sezonie

Celem tematu było wyróżnienie rodów 4x wysoko odpornych na wirus M ziemniaka.

Wyniki

W ramach tematu 3 przeprowadzono ocenę porażenia wtórnego rodów pochodzących z 6 populacji 4x z segregującym genem *Rm* z *S. megistacrolobum* i *Gm* z *S. gourlayi* zakażanych mechanicznie PVM. Ze wszystkich 580 ocenianych genotypów wyróżniono rody podatne na PVM (n = 48) i odporne (n = 538). W każdej z 6 ocenianych populacji

uzyskaliśmy przewagę form odpornych nad podatnymi. Dla czterech ocenianych populacji (M-III, M-IV, M-VII, M-VIII) uzyskano rozkład form odpornych i podatnych, zgodny z rozkładem oczekiwanym (3:1) (rys. 2). Zgodność wyników potwierdzono testem chi-kwadrat (χ^2). Rody wysoko odporne na PVM, z poprawną oceną cech morfologicznych, bez wad zewnętrznych i wewnętrznych zostały umieszczone w kolekcji genotypów odpornych na wirus M ziemniaka.



Rys. 2. Udział genotypów podatnych i odpornych na wirus M ziemniaka w 6 tetraploidalnych populacjach (wyniki dwuletnie)

Wnioski

- W testach oceniających porażenie wtórne wyróżniono z każdej populacji rody odporne na PVM.
- Frekwencja form odpornych do podatnych dla 4 populacji była zgodna z oczekiwaną.
- Rody odporne mogą zostać wykorzystane jako formy rodzicielskie, w przyszłych programach hodowlanych.

TEMAT 4

Ocena porażenia wtórnego rodów ocenianych w doświadczeniu szczegółowym:

- ocena porażenia wtórnego (testy ELISA) wytypowanych rodów 4x (*Rm* i *Gm*) poddanych kompleksowej ocenie odporności na wirus M ziemniaka w poprzednim sezonie.
- ocena porażenia wtórnego (analizy Real-Time PCR) wytypowanych rodów 4x (*Rm* i *Gm*) poddanych kompleksowej ocenie odporności na wirus M ziemniaka w poprzednim sezonie.

Celem tematu było do charakteryzowanie (poprzez ocenę porażenia wtórnego) reakcji odpornościowej wybranych rodów ziemniaka przy zastosowaniu różnych źródeł zmienności.

Wyniki

W ramach tematu 4 oceniano reakcję odpornościową na PVM 12 rodów należących do 4 populacji mających w swym pochodzeniu gen *Rm* i dwóch populacji z genem *Gm*. Porównywano wpływ kilku czynników (genotypu, szczepu wirusa i temperatury) na poziom porażenia oceniany po zakażeniu mechanicznym roślin i po szczepieniu. Ocena zawartości wirusa w komórkach roślinnych była oceniana w doświadczeniach na roślinach pochodzących z próby oczkowej (porażenie wtórne). Obecność PVM była oceniana w testach ELISA (Wasilewicz-Flis, 2001) i metodą Real-Time PCR. Wyniki z porażenia wtórnego dla rodów z populacji *Rm* i *Gm* potwierdziły poziom odporności uzyskany dla nich w porażeniu pierwotnym. Uzyskano bardzo wysoką korelację pomiędzy wynikami uzyskanymi dla roślin z porażenia pierwotnego i wtórnego we wszystkich układach doświadczeń.

Wnioski

- Rody należące do populacji *Rm* i *Gm* w ocenie porażenia wtórnego potwierdziły swój poziom odporności na wirus M ziemniaka uzyskany z porażenia pierwotnego.
- Dla genotypu M-III-130 odnotowano istotny wpływ temperatury i szczepu na namnażanie się wirusa w komórkach roślinnych.
- Odporność na PVM pochodząca od *S. megistacrolobum* i warunkowana genem *Rm* w naszych badaniach nie była rasowo specyficzna. Wyjątek stanowił ród M-III-130.
- Odporność na PVM warunkowana genem *Rm* dla dwóch genotypów z populacji M-III w dużym stopniu zależała od temperatury inkubacji.
- Odporność na PVM pochodząca od *S. gourlayi* przejawia się w szerokiej skali temperatur i nie zależy od szczepu wirusa użytego do zakażeń oraz związana jest ze zjawiskiem tolerancji (brak objawów fenotypowych na roślinach i brak spadku wigoru roślin).
- Rody odporne z genem *Gm* mogą stanowić doskonały materiał hodowlany i wprowadzać do programów hodowlanych wysoki poziom odporności na PVM.
- Zakażenia mechaniczne roślin wydają się być wystarczające do przeprowadzenia fenotypowej oceny poziomu odporności na PVM.

LITERATURA

- Miętkiewska E. 1999. Współdziałanie dwóch typów odporności na wirus M ziemniaka (PVM), pochodzący od *Solanum gourlayi* i *S. megistacrolobum* w ziemniakach tetraploidalnych. Biul. IHAR 209: 125 — 135.
- Wasilewicz-Flis I. 2001. Selekcja rodów hodowlanych odpornych na wirus M ziemniaka (PVM), w których odporność determinowana jest genami *Gm* i *Rm*. Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Radzików, IHAR Monografie i Rozprawy Naukowe 10/2001: 49 — 51.

