

Zadanie 3.1. Poszerzenie zmienności genetycznej pomidora o odporność na wybrane stresy biotyczne oraz ważne cechy jakościowe.

Cele zadania w 2024 r.:

- kontynuacja badań związanych poszerzeniem zmienności genetycznej pomidora pod osłony i pomidora polowego o wartościowe cechy użytkowe.
- ocena stopnia porażenia roślin populacji mapującej, składającej się rekombinacyjnych linii wsobnych LA 1604 × ‘Rumba’ przez wirusa brązowej plamistości pomidora (TSWV) oraz *Phytophthora infestans* (zaraza ziemniaka).
- uzupełnienie danych genomicznych poprzez kontynuację genotypowania populacji mapującej metodą wysokoprzepustowego sekwencjonowania DArTseq.

Opis zadania:

1. Poszerzenie zmienności genetycznej pomidora o wartościowe cechy użytkowe:

Scharakteryzowano kolekcję 12 linii pomidora (sześć linii pomidora pod osłony, sześć linii pomidora polowego) pod względem wybranych cech agromorfologicznych według zmodyfikowanego klasyfikatora dla rodzaju *S. lycopersicum*. Uwzględniając badane cechy określono następnie zróżnicowanie międzyliniowe oraz wyrównanie wewnątrzliniowe ocenianych linii. W przypadku linii mniej zaawansowanych w hodowli, wyselekcjonowane genotypy analizowano dodatkowo przy pomocy markerów molekularnych umożliwiających detekcję alleli warunkujących odporność na: wirusa mozaiki pomidora (ToMV; *Tm2^a*), dwie rasy *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (fuzaryjne więdnienie; *I* - rasa 1 i *I-2* – rasa 2) oraz nicienie (*Mi-1*). W przypadku pomidora polowego, wybrane linie oceniono również pod kątem odporności na zarazę ziemniaka w warunkach naturalnej infekcji *P. infestans* na polu IO – PIB.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że badane linie wykazywały znaczną różnorodność genetyczną w zakresie cech morfologicznych roślin i owocu oraz podatności na agrofagi. U sześciu z 12 linii odnotowano wyraźny postęp pod względem wyrównania wewnątrzliniowego, natomiast pozostałe linie w różnym stopniu segregowały pod względem badanych cech. W tym ostatnim przypadku, do dalszej hodowli wytypowano łącznie 43 najbardziej perspektywiczne genotypy, które rozmnożono wsobnie, uzyskując nasiona kolejnego pokolenia przeznaczonych do dalszych badań. Linie najbardziej zaawansowane w hodowli wykorzystano w programie zapyleń krzyżowych, w wyniku czego otrzymano nasiona 30 nowych eksperymentalnych mieszańców F₁ (14 - pomidor pod osłony, 16 - pomidor polowy). Dodatkowo, w celu zwiększenia zmienności genetycznej w dostępnej puli genowej, przeprowadzono krzyżowania międzyodmianowe (pięć kombinacji), ukierunkowane na poprawę wybranych cech fenotypowych, takich jak wczesność, odporność na patogeny czy cechy jakościowe owoców. Działania te służą wzbogaceniu zmienności genetycznej i wyprowadzeniu nowych, bardziej złożonych materiałów hodowlanych.

2. Określenie zdolności kojarzeniowej materiałów wyjściowych otrzymanych w latach 2021-2023:

Przeprowadzono ocenę zdolności kojarzeniowej wybranych linii pomidora poprzez ocenę wartości użytkowej mieszańców F₁ otrzymanych na bazie tych linii. Badaniami objęto eksperymentalne mieszańce F₁ pomidora pod osłony i polowego. W przypadku pomidora pod osłony przeanalizowano pięć eksperymentalnych mieszańców F₁ typu drobnoowocowego, wybranych na podstawie dwuletnich testów wstępnych, które wykazały ich wysoką wydajność plonowania oraz pożądane cechy jakościowe owoców. Doświadczenie przeprowadzono w cyklu wiosenno-letnim w warunkach szklarniowych, w uprawie bezglebowej na wełnie mineralnej. Jako odmianę kontrolną wykorzystano odmianę Clavellina F₁ (Hazera). Wykazano istotne różnice w plonowaniu między badanymi mieszańcami. Szczególnie wyróżniły się dwa mieszańce E 1743 i E 1738, które osiągnęły najlepsze wyniki pod względem wysokości i jakości plonu, wczesności oraz adaptacji do niesprzyjających

warunków środowiskowych, jakie panowały w 2024 roku. Ich owoce wyróżniały się intensywnym aromatem, słodkim smakiem oraz wysoką jakością sensoryczną. Mieszzańce te polecane są zarówno do zbioru całych gron, jak i owoców luzem, co pozwala na ich dostosowanie do różnorodnych wymagań rynku oraz preferencji konsumentów.

W warunkach polowych zrealizowano doświadczenie odmianowo-porównawcze. Przeprowadzono dwa takie doświadczenia: jedno na polu IO-PIB w Skierniewicach, a drugie w Zakładzie Doświadczalnym Oceny Odmian COBORU w Tarnowie. Przedmiotem badań było pięć eksperymentalnych mieszańców F₁ pomidora polowego, wytypowanych jako najbardziej obiecujące pod względem odporności na zarazę ziemniaka na podstawie wyników dwuletnich testów (2022-2023). Jako kontrolę zastosowano przemysłową odmianę Ifox F₁ (Syngenta). Stwierdzono różnice w plonowaniu badanych mieszańców w zależności od lokalizacji doświadczenia. W doświadczeniu prowadzonym w Tarnowie zaobserwowano ogólnie niższe wartości plonowania w porównaniu do Skierniewic, co można przypisać różnicom w warunkach środowiskowych (m.in. klimatycznych i glebowych). Generalnie mieszańce eksperymentalne osiągały lepsze plonowanie i wyższą zdrowotność roślin niż odmiana kontrolna Ifox F₁. Wyróżniono dwa mieszańce, E 1654 i E 1655, które charakteryzowały się wysokim potencjałem plonotwórczym, odpornością na choroby oraz atrakcyjnymi cechami owoców, co czyni je obiecującymi kandydatami do dalszych badań, a także potencjalnie przydatnymi do uprawy amatorskiej.

3. Opracowanie molekularnej identyfikacji genów warunkujących odporność pomidora na TSWV:

W ramach współpracy z Zakładem Wirusologii i Bakteriologii Instytutu Ochrony Roślin - PIB (IOR-PIB) kontynuowano testy inokulacyjne, w których określano reakcję 30 linii RIL z populacji mapującej F₈ (LA 1604 × 'Rumba') na infekcję TSWV. Reakcję roślin oceniano na podstawie fenotypowej oceny nasilenia objawów chorobowych oraz poprzez sprawdzenie obecności wirusa za pomocą qRT-PCR (14 i 28 dni po inokulacji). Spośród 30 badanych linii, dziewięć wykazało pełną odporność na TSWV, podczas gdy 14 okazało się podatnych. Dla siedmiu linii uzyskano niejednoznaczne wyniki – w przypadku pięciu z nich, pomimo braku objawów przez cały okres doświadczenia, obecność wirusa wykryto u przynajmniej jednej rośliny po 14 i/lub 28 dniach. W przyszłym roku badania będą kontynuowane, aby przebadać wszystkie 110 linii RIL, ze szczególnym uwzględnieniem weryfikacji wyników niejednoznacznych uzyskanych do tej pory.

4. Mapowanie QTL warunkujących odporność pomidora na *P. infestans*:

W bieżącym roku przeprowadzono ocenę fenotypową 110 linii RIL pokolenia F₈, wywodzących się z międzygatunkowego krzyżowania odpornej na zarazę ziemniaka *S. pimpinellifolium* LA 1604 z podatną odmianą *S. lycopersicum* (Rumba). Linie badano pod kątem reakcji na porażenie przez *P. infestans* w trzech środowiskach: naturalnej infekcji na polach doświadczalnych w Skierniewicach i Boguchwale (ODR) oraz w teście infekcyjnym prowadzonym w warunkach kontrolowanych. Analizy wykazały istotny wpływ genotypu, środowiska oraz interakcji genotypowo-środowiskowej na średni stopień porażenia ($p < 0,001$). Zarejestrowano segregację fenotypów w niemal wszystkich klasach porażenia, co potwierdziło zróżnicowaną reakcję linii na *P. infestans* niezależnie od eksperymentu. W 2024 roku zaobserwowano wyższy średni poziom porażenia w porównaniu z rokiem 2023, który wynosił od 4,8 do 6,2. Najniższe wartości odnotowano w Boguchwale (4,8) oraz w szklarni (4,9), gdzie w obu przypadkach ponad połowa badanych linii została uznana za wrażliwe (21% w Boguchwale, 17% w szklarni) lub bardzo wrażliwe (odpowiednio 38% i 45%). Udział linii wysoce odpornych oraz średnio odpornych był podobny w obu doświadczeniach, wynosząc 23% i 29% w Boguchwale oraz 23% i 17% w szklarni. W doświadczeniu polowym w Skierniewicach, gdzie średni wskaźnik porażenia osiągnął wartość 6,2, zaobserwowano nieco odmienne wyniki.

Udział linii wysoce podatnych (20%) był znacznie niższy niż w Boguchwale i w szklarni, natomiast odsetek linii wysoce odpornych był wyższy (44%).

Około 60% linii RIL wykazało różnice w nasileniu objawów chorobowych w zależności od warunków eksperymentalnych. W 20% przypadków różnice te były na tyle znaczące, że powodowały zmianę klasyfikacji linii, na przykład z odpornych na średnio podatne lub na wysoce podatne. Wyniki te podkreślają złożoność genetycznej odporności oraz wskazują na konieczność dalszych badań, szczególnie dotyczących wpływu czynników środowiskowych na reakcję roślin.

Przeprowadzono również genotypowanie metodą DArTseq populacji mapującej oraz na jej formach rodzicielskich. Stabilność preparatów DNA przygotowanych w latach 2023-2024 pozwoliła na pomyślne wykonanie analizy, identyfikując 16 002 markery DArTseq, w tym 7399 markerów SNP (ang. Single Nucleotide Polymorphism) oraz 8603 markery silicoDArT. Z macierzy danych usunięto markery o częstości występowania poniżej 5% oraz te z ponad 30% brakujących wartości. Ostatecznie uzyskano zestaw 6237 markerów SNP i 8603 silicoDArT. Zidentyfikowane markery DArTseq będą podstawą do stworzenia mapy genetycznej, która pozwoli na lokalizację regionów odpowiedzialnych za odporność LA 1604 na zarazę ziemniaka (*P. infestans*). Kontynuacja badań jest planowana na kolejny rok po zweryfikowaniu fenotypowych obserwacji stopnia porażenia poszczególnych linii RIL.