

Zadanie nr 91

Poszukiwanie markerów DNA sprzężonych z cechą odporności na mączniaka rzekomego u ogórka oraz określenie genetycznego zróżnicowania grzyba *Pseudoperonospora cubensis* (Berk & M.A. Curtis) Rostovzev na terytorium Polski

Kierownik projektu: Dr Hanna Habdas

Mączniak rzekomy dyniowatych, choroba powodowana przez *Pseudoperonospora cubensis* (Berk & M.A. Curtis) Rostovzev przyczynia się do znacznego obniżenia plonu ogórka. Z tego powodu poszukuje się nowych źródeł odporności na tę chorobę, które mogłyby zostać wykorzystane w hodowli odpornościowej ogórka gruntowego oraz metod umożliwiających szybką selekcję genotypów odpornych na *Pseudoperonospora cubensis* (*P. cubensis*).

Celem badań w 2011 roku było:

- analiza polimorfizmu DNA komponentów rodzicielskich (linia odporna VC162, linia podatna L244), otrzymanych z Krakowskiej Hodowli i Nasiennictwa Ogrodniczego „POLAN”,
- identyfikacja polimorficznych markerów RAPD w profilach amplifikacyjnych roślin w pokoleniu F₂,
- gromadzenie liści ogórka z objawami porażenia przez *Pseudoperonospora cubensis* w celu określenia zróżnicowania genetycznego patogena.

Materiał badawczy stanowiły:

- dwie formy rodzicielskie: linia odporna DM8 i podatna DM1 na *Pseudoperonospora cubensis* oraz rośliny pokolenia F₂, pochodzące z Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach
- dwie linie rodzicielskie: linia odporna VC162, linia podatna L244 i pokolenie F₂, pochodzące ze skrzyżowania komponentów rodzicielskich otrzymane z Krakowskiej Hodowli i Nasiennictwa Ogrodniczego „POLAN”,
- 6 genotypów o zróżnicowanej odporności na *Pseudoperonospora cubensis*.

Do badań włączono również odmianę Julian F₁, odporną na *Pseudoperonospora cubensis*.

Genomowe DNA z liści ogórka izolowano przy użyciu zestawu NucleoSpin (Macherey-Nagel).

Zidentyfikowano marker OPX18₉₅₀, który różnicował linie rodzicielskie otrzymane z Instytutu Ogrodnictwa i Krakowskiej Hodowli i Nasiennictwa Ogrodniczego „POLAN”. Obecność fragmentu DNA o długości 950 par zasad stwierdzono w liniach rodzicielskich odpornych na *P. cubensis* (DM8, VC162).

Wyróżniono również marker OPJ07₂₀₀₀ specyficzny dla linii podatnych na *P. cubensis* (DM1, L244).

Zbadano amplifikację markera OPX18₉₅₀ dla 100 roślin pokolenia F₂. W tym celu oceniono rośliny pokolenia F₂ metodą nanoszenia na odcięte liścienie kropli inoculum o stężeniu ok. 100 zarodników w polu widzenia przy powiększeniu 10x. Po sześciu dniach od inokulacji przeprowadzono obserwacje porażenia każdego liścienia przez mączniaka rzekomego według skali 10-cio stopniowej (0- brak objawów, 9- porażenie całkowite).

Obecność markera OPX18₉₅₀ stwierdzono we wszystkich roślinach odpornych (klasa porażenia 1, 2, 3) oraz w 5 roślinach z 17 analizowanych w klasie porażenia 4,5. Nie stwierdzono natomiast fragmentu DNA o długości 950 pz w profilach amplifikacyjnych roślin podatnych na *P. cubensis* (klasa porażenia 6, 7, 8, 9).

Z sześciu przebadanych genotypów o różnicowanej odporności na *P. cubensis*, analiza molekularna przy użyciu markera RAPD OPX18₉₅₀ potwierdziła odporność czterech genotypów.

W bieżącym roku pobrano 23 próby z liści ogórka z objawami porażenia przez *P. cubensis* (okolice Skierniewic, Krakowa, Warszawy, Gdańska, Bydgoszczy, Torunia, Opola, Wrocławia, Poznania, Szczecina i Giżycka). Rozpoczęto analizę zróżnicowania genetycznego patogena przy wykorzystaniu metody RAPD. Wstępnie do badań wytypowano 8 starterów RAPD: OPA05, OPA10, OPB06, OPD13, OPE15, OPG14, OPX16 i OPX18.