

Wykorzystanie somatycznej fuzji do przenoszenia agronomicznie ważnych cech z dzikich gatunków *Solanum* do genomu ziemniaka uprawnego *Solanum tuberosum* L.

Paulina Smyda

*Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy,
Oddział Naukowy w Młochowie,
ul. Platanowa 19, 05-831 Młochów
e-mail: p.smyda@ihar.edu.pl*

Słowa kluczowe: ziemniak, somatyczne mieszańce, somatyczna hybrydyzacja, liczby zbalansowanego endospermu

Wstęp

Na produkcję roślin uprawnych, w tym ziemniaka – *Solanum tuberosum* L., wpływa wiele stresów biotycznych wywoływanych przez bakterie, wirusy i grzyby oraz stresów abiotycznych powodowanych czynnikami środowiskowymi. Uprawa roślin z podwyższoną odpornością na choroby i patogeny oraz stresy abiotyczne pozwala na uzyskiwanie wyższych plonów bez stosowania intensywnej ochrony chemicznej. Ziemniak, to czwarta najważniejsza roślina uprawna na świecie, po pszenicy, kukurydzy i ryżu, która wymaga najintensywniejszej chemicznej ochrony. Zmusza to hodowców do tworzenia nowych odmian z większą odpornością na różne stresy [25, 45]. Dotychczas w pracach hodowlanych w celu poszerzenia zmienności genetycznej ziemniaka uprawnego *S. tuberosum* wykorzystano około 13 z ponad 230 dostępnych gatunków *Solanum* [25, 39]. Konwencjonalne metody hodowli rekombinacyjnej ziemniaka, w przypadku braku krzyżowalności wybranych form, wspomagane są przez inne techniki, np. somatyczną hybrydyzację, co pozwala na szersze wykorzystanie zmienności genetycznej, występującej w obrębie *Solanum* [21].

W opracowaniu przedstawiono zastosowanie fuzji protoplastów do podniesienia odporności ziemniaka na *Phytophthora infestans*, choroby wirusowe i bakteryjne oraz podniesienia tolerancji na stresy abiotyczne.

Fuzja protoplastów; korzyści i problemy

Dziki gatunki *Solanum* są wciąż słabo wykorzystywanym rezerwuarem genów warunkujących ważne w hodowli cechy. Przeniesienie alleli cech interesujących hodowców z niektórych dzikich gatunków *Solanum* do ziemniaka uprawnego poprzez tradycyjne krzyżowania seksualne jest utrudnione ze względu na pre- i postzygotyczne bariery krzyżowalności, które uniemożliwiają bezpośrednie ich wykorzystanie [24]. Jednym z mechanizmów izolacji seksualnej gatunków ziemniaka jest wartość liczby zbalansowanego endospermu (EBN – endosperm balance number). Każdy gatunek ma określoną wartość EBN. Współczynnik EBN określany jest jako „efektywna ploidalność” gatunków *Solanum* i powodzenie krzyżowań międzygatunkowych w dużym stopniu zależy od jego wartości [9]. Aby możliwy był prawidłowy rozwój bielma oraz normalny wzrost zarodka, stosunek wartości EBN w bielmie mieszańca powinien wynosić 2:1 dla formy matecznej do ojcowskiej. Tak więc dziki diploidalne gatunki *Solanum*, o wartości EBN 1 krzyżują się między sobą, ale nie krzyżują się bezpośrednio z innymi diploidalnymi (2EBN) oraz tetraploidalnymi (4EBN) formami ziemniaka [8, 10]. Jedną z technik pozwalających na ominięcie tej bariery krzyżowalności jest somatyczna hybrydyzacja [20, 24]. Produkcja somatycznych mieszańców w drodze somatycznej fuzji to użyteczne narzędzie w hodowli wegetatywnie rozmnażających się roślin uprawnych, gdyż pozwala na zwiększenie bioróżnorodności poprzez liczne jądrowe i cytoplazmatyczne kombinacje protoplastów rodzicielskich oraz możliwe zdarzenia rekombinacyjne między nimi [3]. Fuzja protoplastów pozwala na otrzymanie symetrycznych i asymetrycznych mieszańców. Technika ta daje także możliwość tworzenia nowych kombinacji cytoplazmatycznych, czyli tzw. cybryd, które zawierają genom jądrowy jednego rodzica i cytoplazmę drugiego [35]. Jej zastosowanie znajduje się w sferze zainteresowania hodowców [3]. Somatyczna fuzja pozwala na wprowadzenie wybranych cech z dzikich gatunków *Solanum* do genomu *S. tuberosum*. Metoda ta jest szczególnie przydatna do wprowadzania cech dziedziczonych poligenicznie. Często jednak w drodze somatycznej fuzji uzyskuje się dużą ilość autofuzantów, czyli form powstałych z połączenia protoplastów tej samej formy rodzicielskiej, co jest zjawiskiem utrudniającym selekcję mieszańców. Z kolei, uzyskanie znacznej puli somatycznych mieszańców, nie zawsze gwarantuje znalezienie wśród nich mieszańca z ekspresją pożądaną cechy, co może wynikać z braku transmisji lub wyciszenia danego genu w genomie somatycznego mieszańca. Kolejną trudnością jest uzyskiwanie somatycznych mieszańców płodnych i jednocześnie wykazujących ekspresję wprowadzonej cechy. Brak płodności uniemożliwia wykorzystanie takich form w dalszych pracach hodowlanych. W wyniku somatycznej fuzji wraz z pożądanymi genami do mieszańców wprowadzane zostają również niekorzystne cechy z form dzikich [22]. Niekorzystne tło genetyczne może być wyeliminowane w wyniku krzyżowań wstecznych somatycznych mieszańców z *S. tuberosum*. Metoda krzyżowań wstecznych jest możliwa

wtedy, gdy uzyskane somatyczne mieszańce są płodne. Czasami, w celu wyeliminowania niepożądanych cech, należy wykonać kilka krzyżowań wstecznych. Proces krzyżowań wstecznych fuzantów z *S. tuberosum* często jest niemożliwy, ponieważ mieszańce mają poważne zaburzenia mejozy ze względu na niezbalansowanie genetyczne. Alternatywą dla krzyżowania wstecznego może być asymetryczna fuzja [27, 32]. W asymetrycznej fuzji genom formy dzikiej poddany zostaje działaniu promieniowania X, γ lub UV, przez co ulega fragmentacji [33]. Wykorzystanie protoplastów formy dzikiej z pofragmentowanym genomem umożliwi uzyskanie żywotnych asymetrycznych mieszańców ze zmniejszoną zawartością genomowego DNA [49]. Jednak tego rodzaju fuzja nie jest łatwa do przeprowadzenia. Eliminacja DNA jednego z rodziców jest złożonym procesem, zależnym od wielu czynników. Do czynników tych zaliczyć można między innymi dawkę promieniowania X, γ , UV oraz czas trwania kultury kalusa. Generalnie, wraz ze wzrostem dawki promieniowania zwiększa się ilość eliminowanego DNA. Podobna sytuacja jest w przypadku czasu trwania kultury kalusa. Dłuższy czas trwania kultury sprzyja eliminacji DNA. Na proces asymetrycznej fuzji wpływ mają także wzajemne oddziaływania genomów rodzicielskich, ich poziom ploidalności oraz poziom ploidalności uzyskanych mieszańców [49].

W pracy Wielgata i Wasilewskiej przedstawiono pierwsze prace nad wdrażaniem somatycznej fuzji ziemniaka oraz wprowadzaniem na tej drodze odporności z dzikich gatunków do *S. tuberosum* [51]. Technika somatycznej hybrydyzacji stała się możliwa dzięki opracowaniu przez Butenko i in. [6] oraz Sheparda i Tottena [40] metody izolacji protoplastów z mezofilu liści ziemniaka oraz metody ich dalszej regeneracji. Pierwszą agronomicznie ważną cechą, wprowadzoną w drodze elektrofuzji była odporność na herbicyd – atrazynę, której źródłem był wyselekcjonowany odporny klon *S. nigrum*. Uzyskane somatyczne mieszańce *Solanum tuberosum* (+) *Solanum nigrum* wykazywały odporność na atrazynę, jednak właściwość ta nie została wykorzystana w dalszych pracach hodowlanych [4].

Odporność na *Phytophthora infestans*

Zaraza ziemniaka, jedna z najpoważniejszych chorób ziemniaka wywoływana przez patogen *Phytophthora infestans*, jest przyczyną znaczących strat w uprawie ziemniaka na świecie. Obecnie powszechnie uprawiane odmiany *S. tuberosum* nie mają wystarczającej odporności na tę chorobę, a odmiany ziemniaka odporne na *P. infestans*, np. ‘Sarpò Mira’, ‘Biogold’ w Europie czy ‘Bzura’ w Polsce mają mały zasięg uprawy. Do odmian uprawnych ziemniaka wprowadzono geny odporności na zarazę ziemniaka pochodzące z dzikich lub prymitywnie uprawnych gatunków, takich jak *S. demissum*, *S. stoloniferum*, *S. chacoense* i *S. phureja*. Zwiększanie arealu uprawy odmian o podwyższonej odporności na zarazę ziemniaka prowadziło w konsekwencji do porażenia roślin, gdyż patogen szybko ewoluuje i wytwarza nowe rasy

przełamujące ich odporność [5, 19, 41]. Zabezpieczeniem przed przełamaniem odporności na *P. infestans* jest tworzenie form łączących odporność pochodzącą z różnych źródeł, często nowych w odniesieniu do puli hodowlanej ziemniaka. Wiele dzikich gatunków *Solanum* charakteryzuje się wysoką odpornością na *P. infestans*, jednak część z nich ze względu na bariery krzyżowalności nie może być wykorzystana w konwencjonalnej hodowli rekombinacyjnej. Przykładem jest *S. bulbocastanum* ($2n=2x=24$; 1EBN), dziki gatunek ziemniaka, który ze względu na różnice w wartości EBN nie może zostać bezpośrednio skrzyżowany z ziemniakiem uprawnym ($2n=2x=48$; 4EBN). Helgesonowi i in. [18] udało się w wyniku chemicznej fuzji uzyskać wysoko odporne na zarazę ziemniaka heksaploidalne somatyczne mieszańce *S. tuberosum* (+) *S. bulbocastanum*. Odporność tę skutecznie przeniesiono do linii hodowlanych ziemniaka w drodze krzyżowań generatywnych. Z kolei Thieme z zespołem w drodze elektrofuzji uzyskała somatyczne mieszańce dwutorowo: z fuzji klonu *S. tuberosum* z mieszańcem generatywnym *S. pinnatisectum* i *S. bulbocastanum* oraz mieszańcem *S. tuberosum* i *S. pinnatisectum* [45]. Większość uzyskanych mieszańców charakteryzowała się podwyższoną odpornością na zarazę ziemniaka. Mieszańce *S. pinnatisectum* (+) *S. tuberosum* uzyskali także Szczerbakowa i in., jednak nie wykazywały one odporności na *P. infestans* [42]. Nouri-Ellouz i in. otrzymali trzy linie somatycznych mieszańców powstałych z fuzji protoplastów *S. tuberosum* i *S. berthaultii*. Dzikie gatunki *S. berthaultii* jest źródłem odporności na zarazę ziemniaka oraz na wiele szkodników atakujących ziemniaka uprawnego [3, 36]. Mieszańce *S. tuberosum* (+) *S. berthaultii* oprócz odporności na zarazę ziemniaka charakteryzowały się zwiększonym wigorem, plonem i ciężarem bulw w stosunku do uprawnej formy rodzicielskiej. Poza tym niektóre z uzyskanych mieszańców charakteryzowały się większą tolerancją na stres solny [3]. Źródłem odporności na *P. infestans* jest również *S. nigrum*, które początkowo było traktowane jako forma immunna na *P. infestans* nie będąca gospodarzem dla patogena. Okazało się, że *S. nigrum* jest gospodarzem dla *P. infestans*, ale utrzymuje bardzo wysoką odporność na większość izolatów *P. infestans* [23]. Zimnoch-Guzowska z zespołem testowała somatyczne mieszańce *S. nigrum* (+) *S. tuberosum* pod kątem odporności na *P. infestans* [52]. Większość testowanych genotypów wykazywała wyższą odporność na *P. infestans* od odpornej formy rodzicielskiej. *S. cardiophyllum*, dziki gatunek ziemniaka rosnący na terenach Meksyku i w południowo-zachodniej części USA, jest kolejnym źródłem odporności na *P. infestans* [47]. Dodatkowo gatunek ten ma odporność na stonkę ziemniaczaną i wirusa Y ziemniaka. W drodze elektrofuzji Thieme i in. otrzymali somatyczne mieszańce *S. cardiophyllum* (+) *S. tuberosum*, wykazujące wysoką odporność na *P. infestans*. Jeden z uzyskanych mieszańców wykazywał także wysoką odporność na stonkę ziemniaczaną i PVY. Badane mieszańce były płodne, dzięki czemu mogą być wykorzystane w dalszych pracach hodowlanych [47]. Źródłem odporności na *P. infestans* jest również dziki gatunek *S. michoacanum*, powstały w drodze spontanicznej krzyżówki *S. bulbocastanum* i *S. pinnatisectum*. Szczerbako-

wa i in. w drodze chemicznej fuzji otrzymali somatyczne mieszańce *S. michoacanum* (+) *S. tuberosum* [43]. Trzy tetraploidalne somatyczne mieszańce wykazywały odporność na zarazę ziemniaka na poziomie wyższym (oceny od 5,3 do 6,3 w skali 1–9, 9 – najodporniejsze) od podatnego rodzica *S. tuberosum* (ocena 3.6). Pozostałe badane formy mieszańcowe były podatne na *P. infestans*.

Odporność na wirusy ziemniaka

Wegetatywnie rozmnażany ziemniak ulega porażeniu wirusami, co istotnie wpływa na straty plonu. Do najbardziej rozpowszechnionych we wszystkich rejonach uprawy ziemniaka należą wirus Y (PVY), wirus M (PVM), wirus liściozwoju (PLRV), wirus X (PVX), wirus S (PVS) i wirus A (PVA) ziemniaka [50]. Niektóre dzikie gatunki *Solanum* wykazują odporność na kilka wirusów ziemniaka. Jednym z pierwszych dzikich krewnych ziemniaka wykorzystanych w somatycznej fuzji w celu introgresji genów odporności na wirusy był diploidalny nietuberyzujący gatunek *S. brevidens* ($2n = 2x = 24$). Wykazuje on odporność na PLRV, PVY i PVA oraz średnią odporność na PVX, PVM i PVA. Po raz pierwszy żywotne i płodne somatyczne mieszańce *S. brevidens* (+) *S. tuberosum* otrzymali Austin i in. [1]. Uzyskali oni heksaploidalne mieszańce wykazujące odporność na PLRV pochodzącą z *S. brevidens* oraz odporność na *P. infestans*, pochodzącą od drugiego rodzica. Mieszańce te wytwarzały bulwy. Ehlenfeldt i Helgeson kontynuując badania somatycznych mieszańców *S. brevidens* (+) *S. tuberosum* stwierdzili, że formy mieszańcowe wytwarzały żywotny i płodny pyłek, co pozwoliło na transfer odporności na PLRV i *P. infestans* z somatycznych mieszańców do konwencjonalnych linii hodowlanych ziemniaka [13]. Również Carrasco i in. otrzymali somatyczne mieszańce odporne na wirus liściozwoju ziemniaka. Źródłem odporności był dziki tuberyzujący gatunek *S. verrucosum* [12]. Redukcję plonu sięgającą nawet 80% może powodować wirus Y ziemniaka [29, 30]. Znane są gatunki ziemniaka będące źródłem odporności na ten wirus, np. *S. brevidens*, *S. tarnii* czy *S. etuberosum* [28]. W drodze somatycznej fuzji uzyskano mieszańce *S. brevidens* (+) *S. tuberosum*, wykazujące wysoką odporność na wirusa Y ziemniaka (szczepy: PVY^N, PVY⁰). Formy te cechowała słaba tuberyzacja. Poprawę tuberyzacji, przy jednoczesnym zachowaniu wysokiej odporności na PVY, uzyskano poprzez obniżenie poziomu ploidalności somatycznych mieszańców i zredukowanie udziału genomu formy dzikiej. W tym celu wykorzystano kulturę pylników. Metodą tą otrzymano formy haploidalne, odporne na PLRV, PVY, PVA i *P. infestans* [37, 38]. Gibson i Pehu z zespołami zaobserwowali zróżnicowaną odporność na PVY wśród uzyskanych heksaploidalnych mieszańców *S. brevidens* i *S. tuberosum*, co tłumaczyli zróżnicowanym stosunkiem ilościowym genomów rodzicielskich [16, 34]. Inną przyczyną zróżnicowanej odporności mogła być eliminacja części materiału genetycznego jednego z rodziców i dominacja drugiego. *S. etuberosum* jest kolejnym źródłem odporności na PVY. Novy i Helgeson otrzymali

somatyczne mieszańce z fuzji protoplastów odpornego klonu *S. etuberosum* i podatnego klonu, pochodzącego z krzyżowania pomiędzy *S. tuberosum* i *S. berthaultii*. Otrzymane mieszańce wykazywały większą odporność na PVY od podatnego rodzica, jednak żaden z mieszańców nie miał wyższej odporności od odpornej formy *S. berthaultii* [28]. W 2002 roku Novy i in. wyprowadzili pokolenie wsteczne BC₂, pochodzące od somatycznych mieszańców *S. etuberosum* (+) *S. tuberosum*. Uzyskane formy testowano pod kątem odporności na PVY i PLRV. Przeprowadzono też testy odporności na zakażenie ich przez mszyce, wektory tych wirusów. Uzyskano formy pokolenia BC₂, wykazujące odporność na zakażenie przez mszyce PVY i PLRV [29]. W roku 2007 Novy z zespołem otrzymali trzecie pokolenie wsteczne BC₃, pochodzące od mieszańców *S. etuberosum* (+) *S. tuberosum*. Odporność uzyskanych form pokolenia BC₃ na PLRV i PVY testowano w warunkach polowych. Formy te utraciły odporność na wirusa Y ziemniaka, natomiast odporność na PLRV została zachowana [30]. *S. etuberosum* jako źródło odporności na PVY wykorzystali Tiwari i in. W drodze elektrofuzji otrzymali płodne i odporne na PVY somatyczne mieszańce *S. etuberosum* (+) *S. tuberosum* [48]. Dziki gatunek *S. tarnii* (2n=2x= 24), należący do serii *Pinnatisecta* charakteryzuje się wysoką odpornością na wirusa Y ziemniaka, stonkę ziemniaczaną oraz wykazuje reakcję nadwrażliwości na *P. infestans*. W drodze elektrofuzji uzyskano somatyczne mieszańce odmiany ziemniaka 'Delikat' i *S. tarnii*, które wykazywały odporność na wirusa Y ziemniaka. Większość uzyskanych mieszańców miała również odporność na *P. infestans*. W celu redukcji poziomu ploidalności heksaploidalnych somatycznych mieszańców i ulepszenia ich cech agronomicznych otrzymano pokolenie BC₁ na drodze krzyżowania mieszańców *S. tuberosum* (+) *S. tarnii* z odmianą 'Delikat'. Osobniki BC₁ wykazywały odporność na oba patogeny. Zarówno mieszańce *S. tuberosum* (+) *S. tarnii* jak i osobniki BC₁ wytwarzały płodny pyłek, co daje szansę na ich przyszłe wykorzystanie w programach krzyżowań [46].

Odporność na choroby bakteryjne

Zakażenia bakteryjne ziemniaka stanowią kolejny czynnik biotyczny, obniżający plon i jakość bulw ziemniaka. Bakteria *Ralstonia solanacearum* powoduje poważne straty w uprawie ziemniaka, gdyż wywołuje wędnięcie masy zielonej [15, 17]. Choroba śluzak ziemniaka, wywołana przez *R. solanacearum*, zaliczana jest do chorób kwarantannowych. Zwalczanie śluzaka poprzez chemiczne zabiegi jest bardzo kosztowne i mało efektywne. Otrzymanie odmian z całkowitą odpornością na *R. solanacearum* jest jednym z najlepszych sposobów walki z tą bakterią. Potencjalnym źródłem odporności na tę bakterię są niektóre dzikie i prymitywne uprawne gatunki *Solanum*, które wykazują odporność lub wysoką tolerancję na *R. solanacearum*. W drodze elektrofuzji wysoko odpornych form *S. phureja* oraz *S. stenotomum* z *S. tuberosum* uzyskano somatyczne mieszańce z podwyższoną odpornością na tę bakterię

[14, 15]. Jednak z praktycznego punktu widzenia jedynie formy skrajnie odporne mają zastosowanie w hodowli, gdy odporność dotyczy chorób kwarantannowych. Straty w plonie bulw podczas przechowywania powodują *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (dawniej *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Ecc)) oraz *Pectobacterium atrosepticum* (dawniej *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (Eca)), bakterie wywołujące mokrą zgniliznę bulw ziemniaka. Dotychczas nie udało się otrzymać nowoczesnych odmian ziemniaka z pełną odpornością na te bakterie i nie opracowano skutecznej metody chemicznej ochrony. Znane są odmiany wykazujące niewielką tolerancję na te bakterie [11, 44]. Źródłem odporności na *Pectobacterium* spp. jest między innymi *S. brevidens*. Otrzymano somatyczne mieszańce *S. brevidens* i ziemniaka uprawnego, wykazujące zwiększoną odporność na *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*. Otrzymane pokolenia wsteczne zachowały odporność na poziomie uzyskanych mieszańców [26]. Tek wraz z zespołem [44] testowali trzecie pokolenie wsteczne BC₃ pochodzące od somatycznych mieszańców *S. brevidens* (+) *S. tuberosum* pod kątem odporności na mokrą zgniliznę bulw ziemniaka i alternariozę. Alternarioza jest chorobą ziemniaka o podobnych objawach jak zaraza ziemniaka powodowaną przez grzyb *Alternaria solani*. Testowane formy BC₃ wykazywały zwiększoną odporność na obydwie choroby [44]. Innym źródłem odporności na mokrą zgniliznę bulw jest *S. commersonii*. Carputo i in. [11] otrzymali somatyczne mieszańce *S. commersonii* (+) *S. tuberosum* wysoko odporne na mokrą zgniliznę bulw. Niestety w uzyskanym pokoleniu wstecznym BC₁ odporność ta została znacznie obniżona.

Tolerancja na niektóre czynniki abiotyczne

W wielu rejonach upraw ziemniaka na świecie niskie temperatury mogą powodować niszczenie roślin i plonu ziemniaka. Szczególnie niebezpieczne są przymrozki, występujące na początku i pod koniec okresu wegetacyjnego. *S. tuberosum* ma niewielką tolerancję na niskie temperatury, jak również charakteryzuje się słabą zdolnością adaptacji do niskich temperatur. Temperatura zamarzania roślin *S. tuberosum* zależna jest od genotypu i średnio wynosi -3°C , podczas gdy u jego dzikiego krewniaka *S. commersonii* ($2n = 2x = 24$, 1EBN) temperatura zamarzania jest niższa i waha się od $-4,5^{\circ}\text{C}$ do $-11,5^{\circ}\text{C}$. Cardi i in. [7] w drodze elektrofuzji uzyskali somatyczne mieszańce *S. tuberosum* (+) *S. commersonii* wyróżniające się tolerancją na niskie temperatury, jak również zdolnością adaptacyjną do chłódów. Dodatkowo jeden z uzyskanych somatycznych mieszańców cechował się męską i żeńską płodnością, co pozwoliło na dalsze jego wykorzystanie w pracach hodowlanych. Wykazano, że większość testowanych somatycznych mieszańców *S. tuberosum* (+) *S. commersonii* charakteryzowała się zwiększoną tolerancją na niskie temperatury w stosunku do *S. tuberosum* oraz miała zróżnicowaną zdolność aklimatyzacji do chłodu [31]. Znane są również mieszańce *S. tuberosum* (+) *S. commersonii*, które

oprócz tolerancji na niskie temperatury wykazywały odporność na grzyby z rodzaju *Verticillium*, wywołujące więdnienie masy zielonej [2].

W tabeli 1 przedstawiono przykładowe cechy wprowadzane z dzikich i prymitywnie uprawnych gatunków *Solanum* do genomu *S. tuberosum* na drodze somatycznej hybrydyzacji.

Tabela 1. Przykłady cech odpornościowych wprowadzanych z dzikich i prymitywnie uprawnych gatunków *Solanum* do genomu *S. tuberosum* na drodze somatycznej hybrydyzacji

Somatyczny mieszaniec	Cecha wprowadzana na drodze somatycznej fuzji	Literatura
<i>Solanum tuberosum</i> (+) <i>Solanum nigrum</i>	odporność na atrazynę	[4]
<i>S. tuberosum</i> (+) <i>S. pinnatisectum</i> × <i>S. bulbocastanum</i>	odporność na <i>Phytophthora infestans</i>	[45] [45]
<i>S. tuberosum</i> (+) <i>S. pinnatisectum</i>		[18]
<i>S. tuberosum</i> (+) <i>S. bulbocastanum</i>		[42]
<i>S. tuberosum</i> (+) <i>S. pinnatisectum</i>		[3]
<i>S. tuberosum</i> (+) <i>S. berthaultii</i>		[47]
<i>S. tuberosum</i> (+) <i>S. cardiophyllum</i>		[43]
<i>S. tuberosum</i> (+) <i>S. michoacanum</i>		
<i>S. tuberosum</i> (+) <i>S. brevidens</i>	odporność na PLRV odporność na <i>P. infestans</i>	[1]
<i>S. tuberosum</i> (+) <i>S. verrucosum</i>	odporność na PLRV	[12]
<i>S. tuberosum</i> (+) <i>S. brevidens</i>	odporność na PVY	[37]
<i>S. tuberosum</i> × <i>S. berthaultii</i>		[28]
(+) <i>S. etuberosum</i>		[48]
<i>S. tuberosum</i> (+) <i>S. etuberosum</i>		
<i>S. tuberosum</i> (+) <i>S. tamii</i>	odporność na PVY odporność na <i>P. infestans</i> odporność na stonkę ziemniaczaną	[46]
<i>S. tuberosum</i> (+) <i>S. phureja</i>	odporność na <i>Ralstonia solanacearum</i>	[14]
<i>S. tuberosum</i> (+) <i>S. stenotomum</i>		[15]
<i>S. tuberosum</i> (+) <i>S. commersonii</i>	odporność na <i>Pectobacterium</i> spp.	[11]
<i>S. tuberosum</i> (+) <i>S. brevidens</i>	odporność na <i>P. carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	[26]
<i>S. tuberosum</i> (+) <i>S. commersonii</i>	tolerancja na niskie temperatury	[7]
<i>S. tuberosum</i> (+) <i>S. commersonii</i>	tolerancja na niskie temperatury odporność na grzyby z rodzaju <i>Verticillium</i>	[2]

Podsumowanie

W pracach hodowlanych prowadzone są działania mające na celu poszerzenie zmienności genetycznej *S. tuberosum*. Źródłem nowych alleli ważnych cech w hodowli nowoczesnych odmian ziemniaka mogą być dzikie lub prymitywnie uprawne gatunki *Solanum*. Bezpośrednie wykorzystanie niektórych gatunków *Solanum* jest

utrudnione ze względu na istniejące bariery krzyżowalności z *S. tuberosum*. Zastosowanie somatycznej hybrydyzacji pozwala na ominięcie barier krzyżowalności i wykorzystanie gatunków niosących interesujące, ważne cechy. Technika somatycznej hybrydyzacji jest metodą, która może wspomagać konwencjonalne metody hodowli i chociaż dotychczasowy jej udział w osiągnięciach hodowlanych nie jest duży, to przedstawione wyniki wskazują, że dalsze prace nad wdrażaniem tej metody mogą przynieść wymierne korzyści.

Literatura

- [1] Austin S., Ehlenfeld M.K., Baer M.A., Helgeson J.P. 1986. Somatic hybrids produced by protoplast fusion between *S. tuberosum* and *S. brevidens*: phenotypic variation under field conditions. *Theor. Appl. Genet.* 71: 682–690.
- [2] Bastia T., Carotenuto N., Basile B., Zoina A., Cardi T. 2000. Induction of novel organelle DNA variation and transfer of resistance to frost and *Verticillium* wilt in *Solanum tuberosum* through somatic hybridization with 1EBN *S. commersonii*. *Euphytica* 116: 1–10.
- [3] Bidani A., Nouri-Ellouz O., Lakhoua L., Sihachakr D., Cheniclet C., Mahjoub A., Drira N., Gargouri-Bouزيد R. 2007. Interspecific potato somatic hybrids between *Solanum berthaultii* and *Solanum tuberosum* L. showed recombinant plastome and improved tolerance to salinity. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 91: 179–189.
- [4] Binding H., Jain S.M., Finger J., Mordhorst G., Nehls R., Gressel J. 1982. Somatic hybridization of an atrazine resistant biotype of *Solanum nigrum* with *Solanum tuberosum*. Part 1: Clonal variation in morphology and in atrazine sensitivity. *Theor. Appl. Genet.* 63: 273–277.
- [5] Botłowicz D., Szczerbakowa A., Wielgat B. 2005. RAPD analysis of the interspecific somatic hybrids *Solanum bulbocastanum* (+) *S. tuberosum*. *Cel. Mol. Biol. Lett.* 10: 151–162.
- [6] Butenko R.G., Kuchko A.A., Vitenko V.A., Avetisov V.A. 1977. Obtaining and cultivation of leaf mesophyll protoplasts of *Solanum tuberosum* L. and *Solanum chacoense*. *Plant Physiol.* 24: 660–664.
- [7] Cardi T., Ambrosio F.D., Consoli D., Puite K.J., Ramulu K.S. 1993. Production of somatic hybrids between frost-tolerant *Solanum commersonii* and *S. tuberosum*: characterization of hybrid plants. *Theor. Appl. Genet.* 87: 193–200.
- [8] Carputo D., Barone A., Cardi T., Sebastiano A., Frusciantè L., Peloquin S.J. 1997. Endosperm balance number manipulation for direct in vivo germplasm introgression to potato from a sexually isolated relative (*Solanum commersonii* DUN.). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 12013–12017.
- [9] Carputo D., Garreffa P., Mazzei M., Monti L., Cardi T. 1998. Fertility of somatic hybrids *Solanum commersonii* (2x, 1EBN) (+) *S. tuberosum* haploid (2x, 2EBN) in intra- and inter- EBN crosses. *Genome* 41: 776–781.
- [10] Carputo D., Monti L., Werner J.E., Frusciantè L. 1999. Uses and usefulness of endosperm balance number. *Theor. Appl. Genet.* 98: 478–484.
- [11] Carputo D., Basile B., Cardi T., Frusciantè L. 2000. *Erwinia* resistance in backcross progenies of *Solanum tuberosum* × *S. tarijense* and *S. tuberosum* (+) *S. commersonii*. *Potato Res.* 43: 135–142.
- [12] Carrasco A., Ruiz De Galarreta J.I., Rico A., Ritter E. 2000. Transfer of PLRV resistance from *Solanum verrucosum* SCHLECHDT to potato (*S. tuberosum* L.) by protoplast electrofusion. *Potato Res.* 43: 31–42.
- [13] Ehlenfeldt M.K., Helgeson J.P. 1987. Fertility of somatic hybrids from protoplast fusions of *Solanum brevidens* and *S. tuberosum*. *Theor. Appl. Genet.* 73: 395–402.
- [14] Fock I., Collonnier C., Purwito A., Luisetti J., Souvannavong V., Vedel F., Servaes A., Ambroise A., Kodja H., Ducreux G., Sihachakr D. 2000. Resistance to bacterial wilt in somatic hybrids between *Solanum tuberosum* and *Solanum phureja*. *Plant Sci.* 160: 165–176.
- [15] Fock I., Collonnier C., Luisetti J., Purwito A., Souvannavong V., Vedel F., Servaes A., Ambroise A., Kodja H., Ducreux G., Sihachakr D. 2001. Use of *Solanum stenotomum* for introduction of resistance to bacterial wilt in somatic hybrids of potato. *Plant Physiol. Biochem.* 39: 899–908.
- [16] Gibson R.W., Jones M.G.K., Fish N. 1988. Resistance to potato leaf roll virus and potato virus Y in somatic hybrids between dihaploid *Solanum tuberosum* and *Solanum brevidens*. *Theor. Appl. Genet.* 76: 113–117.

- [17] Hayward A.C., Elphinstone J.G., Caffier D., Janse J., Stefani E., French E.R., Wright A.J. 1998. Round table on bacterial wilt (brown rot) of potato. W: Prior P.H., Allen C., Elphinstone J. (Eds.), *Bacterial Wild Disease, Molecular and Ecological Aspects*, Springer-Verlag, Berlin, 1998: 420–430.
- [18] Helgeson J.P., Pohlman J.D., Austin S., Haberlach G.T., Wielgus S.M., Ronis D., Zambolim L., Tooley P., McGrath J.M., James R.V., Stevenson W.R. 1998. Somatic hybrids between *Solanum bulbocastanum* and potato: a new source of resistance to late blight. *Theor. Appl. Genet.* 96: 738–742.
- [19] Hermanova V., Barta J., Curn V. 2007. Wild potato species: Characterization and biological potential for potato breeding. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 43(3): 73–81.
- [20] Hermsen J.G.T. 1995. Introgression of genes from wild species, including molecular and cellular approaches. W: J. Bradshaw, G. Mackay (Eds.), *Potato Genetics*, CAB International, Wallingford, UK: 515–538.
- [21] Jansky S. 2006. Review. Overcoming hybridization barriers in potato. *Plant Breed.* 125: 1–12.
- [22] Komoń T. 2008. Kultura i fuzja protoplastów ziemniaka. *Herba Polonica* 54(4): 187–204.
- [23] Lebecka R. 2007. Psianka czarna (*Solanum nigrum* L.) może być gospodarzem dla *Phytophthora infestans* (MONT) DE BARY, sprawcy zarazy ziemniaka. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 47(2): 170–172.
- [24] Liu J., Xu X., Deng X. 2005. Intergenic somatic hybridization and its application to crop genetic improvement. *Plant Cell* 82: 19–44.
- [25] Mackay G.R. 2005. Propagation by traditional breeding methods. W: M.K. Razdan, A.K. Mattoo (Eds.) *Genetic Improvement of Solanaceous Crops Volume I: Potato*: 65–81.
- [26] McGrath J.M., Williams C.E., Haberlach G.T., Wielgus S.M., Uchytel T.F., Helgeson J.P. 2002. Introgression and stabilization of *Erwinia* tuber soft rot resistance into potato after somatic hybridization of *Solanum tuberosum* and *S. brevidens*. *Am. J. Potato Res.* 79: 19–24.
- [27] Millam S., Payne L.A., Mackay G.R. 1995. The integration of protoplast fusion-derived material into a potato breeding programme – a review of progress and problems. *Euphytica* 85: 451–455.
- [28] Novy R.G., Helgeson J.P. 1994. Resistance to potato virus Y in somatic hybrids between *Solanum etuberosum* and *S. tuberosum* × *S. berthaultii* hybrid. *Theor. Appl. Genet.* 89: 783–786.
- [29] Novy R.G., Nasruddin A., Ragsdale D.W., Radcliffe E.B. 2002. Genetic resistances to Potato Leafroll Virus, Potato Virus Y and green peach aphid in progeny of *Solanum etuberosum*. *Am. J. Potato Res.* 79: 9–18.
- [30] Novy R.G., Gillen A.M., Whitworth J.L. 2007. Characterization of the expression and inheritance of potato leafroll virus (PLRV) and potato virus Y (PVY) resistance in three generations of germplasm derived from *Solanum etuberosum*. *Theor. Appl. Genet.* 114: 1161–1172.
- [31] Nyman M., Waara S. 1997. Characterisation of somatic hybrids between *Solanum tuberosum* and its frost-tolerant relative *Solanum commersonii*. *Theor. Appl. Genet.* 95: 1127–1132.
- [32] Oberwalder B., Ruoff B., Schilde-Rentschler L., Hemleben V., Ninnemann H. 1997. Asymmetric fusion between wild and cultivated species of potato (*Solanum* spp.) – detection of asymmetric hybrids and genome elimination. *Theor. Appl. Genet.* 94: 1104–1112.
- [33] Orczyk W., Przetakiewicz J., Nadolska-Orczyk A. 2003. Somatic hybrids of *Solanum tuberosum* – application to genetics and breeding. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 74: 1–13.
- [34] Pehu E., Gibson R.W., Jones M.G.K., Karp A. 1990. Studies on the genetic basis of resistance to potato leaf roll virus, potato virus Y and potato virus X in *Solanum brevidens* using somatic hybrids of *Solanum brevidens* and *Solanum tuberosum*. *Plant Sci.* 69: 95–101.
- [35] Przetakiewicz J. 2003. Tworzenie tetraploidalnych mieszańców somatycznych ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.) z wybranych linii diploidalnych. IHAR-PIB, Radzików. Praca doktorska. Praca znajduje się w bibliotece IHAR-PIB Radzików
- [36] Rancher G., Smart C.D., Simko I., Bonierbale M., Mayton H., Greenland A., Fry W.E. 2006. Characterization and mapping of rpi-ber, a novel potato late blight resistance gene from *Solanum berthaultii*. *Theor. Appl. Genet.* 112(4): 674–687.
- [37] Rokka V.-M., Xu Y.-S., Kankila J., Pulli S., Pehu E. 1994. Identification of somatic hybrids of dihaploid *Solanum tuberosum* and *S. brevidens* by species specific RAPD patterns and assessment of disease resistance of the hybrids. *Euphytica* 80: 207–217.
- [38] Rokka V.-M., Valkonen J.P.T., Pehu E. 1995. Production and characterization of haploids derived from somatic hybrids between *Solanum brevidens* and *S. tuberosum* through anther culture. *Plant Sci.* 112: 85–95.
- [39] Rokka V.-M., Valkonen J. P. T., Pehu E. 1997. Somatohaploid production by anther culture of interspecific somatic hybrids and their prospects in potato breeding. W: S.M. Jain, S.K. Sopory, R.E. Veilleux (Eds.) *In vitro haploid production in higher plants* 5: 233–243.

- [40] Shepard J.F., Totten R.E. 1977. Mesophyll cell protoplasts of potato: Isolation, proliferation and plant regeneration. *Plant Physiol.* 60: 313–316.
- [41] Song J., Bradeen J.M., Naess S.K., Raasch J.A., Wielgus S.M., Haberlach G.T., Liu J., Kuang H., Austin-Philips S., Buell C.R., Helgeson J.P., Jiang J. 2003. Gene RB cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight. *PNAS* 100(16): 9128–9133.
- [42] Szczerbakowa A., Bołtowicz D., Lebecka R., Radomski P., Wielgat B. 2005. Characteristics of the interspecific somatic hybrids *Solanum pinnatisectum* (+) *S. tuberosum* H-8105. *Acta Physiol. Plant.* 27: 265–273.
- [43] Szczerbakowa A., Tarwacka J., Oskiera M., Jakuczun H., Wielgat B. 2010. Somatic hybridization between the diploids of *S. × michoacanum* and *S. tuberosum*. *Acta Physiol. Plant.* 32: 867–873.
- [44] Tek A.L., Stevenson W.R., Helgeson J.P., Jiang J. 2004. Transfer of tuber soft rot and early blight resistances from *Solanum brevidentis* into cultivated potato. *Theor. Appl. Genet.* 109: 249–254.
- [45] Thieme R., Darsow U., Gavrilenko T., Dorokhov D., Tiemann H. 1997. Production of somatic hybrids between *S. tuberosum* L. and late blight resistant Mexican wild potato species. *Euphytica* 97: 189–200.
- [46] Thieme R., Rakosy-Tican E., Gavrilenko T., Antonova O., Schubert J., Nachtigall M., Heimbach U., Thieme T. 2008. Novel somatic hybrids (*Solanum tuberosum* L. + *S. tarnii*) and their fertile BC1 progenies express extreme resistance to potato virus Y and late blight. *Theor. Appl. Genet.* 116: 691–700.
- [47] Thieme R., Rakosy-Tican E., Nachtigall M., Schubert J., Hammann T., Antonova O., Gavrilenko T., Heimbach U., Thieme T. 2010. Characterization of the multiple resistance traits of somatic hybrids between *Solanum cardiophyllum* LINDL. and two commercial potato cultivars. *Plant Cell Rep.* 29: 1187–1201.
- [48] Tiwari J.K., Sarkar P.D., Pandey S.K., Gopal J., Kumar S.R. 2010. Molecular and morphological characterization of somatic hybrids between *Solanum tuberosum* L. and *S. etuberosum* LINDL. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 103: 175–187.
- [49] Trick H., Zelcer A., Bates G.W. 1994. Chromosome elimination in asymmetric somatic hybrids: effect of gamma dose and time in culture. *Theor. Appl. Genet.* 88: 965–972.
- [50] Wasilewicz-Flis I., Strzelczyk-Żyta D., Dębski K., Hara A., Jakuczun H. 2010. Diploidalne klony ziemniaka z kolekcji IHAR w Młochowie źródłem odporności na wirusy ziemniaka. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 555: 657–666.
- [51] Wielgat B., Wasilewska L.D. 2001. Hybrydyzacja somatyczna pomiędzy dzikimi i uprawnymi gatunkami ziemniaka. *Biotechnologia* 2(53): 9–15.
- [52] Zimnoch-Guzowska E., Lebecka R., Kryszczuk A., Maciejewska U., Szczerbakowa A., Wielgat B. 2003. Resistance to *Phytophthora infestans* in somatic hybrids of *Solanum nigrum* L. and diploid potato. *Theor. Appl. Genet.* 107: 43–48.

Somatic fusion as a tool for tranference of important agronomical traits from wild *Solanum* species to cultivated *S. tuberosum* L. genome

Key words: potato, somatic hybrids, somatic hybridization, Endosperm Balance Number

Summary

Potato breeding is aimed to broaden the genetic variability of resistance to biotic and abiotic stresses in *Solanum tuberosum*. Some wild potato species, donors of many interesting and important traits are reproductively isolated from *S. tuberosum* and cannot be crossed directly with potato. Somatic hybridization can be used as an alternative method to sexual crosses. Cell fusion is a very promising tool for the breeding pro-

grams of vegetatively propagated crops, because it generates biodiversity in the numerous nuclear and cytoplasmic genome combinations and recombination between parental and maternal genomes. Until now obtained results with applying this technique revealed that further work on its implementation into breeding process might be fruitfull.