

Wykorzystanie form diploidalnych ziemniaka w pracach hodowlanych i genetycznych

Ewa Zimnoch-Guzowska

*Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Oddział Młochów,
ul. Platanowa 19, 05-831 Młochów*

Słowa kluczowe: ziemniak, diploidy, *Solanum tuberosum* L., hodowla, badania genetyczne

Wstęp

Ziemniak uprawny *Solanum tuberosum* L. (*tbr**) jest gatunkiem tetraploidalnym ($2n = 48$). Jego tetraalleliczność utrudnia proces hodowli. Hodowca w procesie selekcji ocenia materiał hodowlany pod względem około 50 cech jakościowych, odpornościowych czy agronomicznych, najczęściej niezależnie dziedziczonych. Coraz trudniej jest wyselekcjonować w potomstwie form tetraploidalnych rekombinanty, które spełniają wymogi nowoczesnej odmiany. Jedną odmianę selekcjonuje się z około 100–150 tysięcy siewek przez 11–12 lat [72]. Znanych jest 225 tuberyzujących dzikich gatunków *Solanum* oraz 9 uprawnych [60]. Większość gatunków dzikich i prymitywnie uprawnych ziemniaka jest diploidalna. Prace nad ziemniakiem na poziomie diploidalnym rozpoczęły się w latach sześćdziesiątych.

Przesłanki wykorzystywania form diploidalnych w hodowli ziemniaka

Wykorzystanie diploidalnych gatunków dzikich i prymitywnie uprawnych jako nowego źródła zmienności genetycznej

Pula gatunków *Solanum* była w przeszłości oraz jest obecnie wykorzystywana w hodowli jako źródło odporności na wirusy, bakterie, grzyby, nicienie i owady. Szeroką i wyczerpującą charakterystykę gatunków dzikich oraz ich wykorzystanie przedstawili w swych pracach m.in. Ross [51], Soest [59], Hawkes [20], Hermsen [21].

* Skróty nazw gatunków *Solanum* wg Simmonds [57].

W tabeli 1 zestawiono ważniejsze gatunki *Solanum* wykorzystywane w hodowli odpornościowej ziemniaka.

Tabela 1. Gatunki *Solanum* wykorzystywane w hodowli odpornościowej ziemniaka; gatunki diploidalne są w tabeli zaznaczone grubym drukiem

Odporność na czynniki biotyczne i abiotyczne	Źródłowe gatunki <i>Solanum</i> *
Wirus Y ziemniaka, PVY	<i>adg, chc, sto</i>
Wirus X ziemniaka, PVX	<i>adg, acl</i>
Wirus liściozwoju ziemniaka, PLRV	<i>adg, dms, acl</i>
Wirus S ziemniaka, PVS	<i>adg</i>
Wirus A ziemniaka, PVA	<i>chc, sto</i>
<i>Phytophthora infestans</i>	<i>dms, chc, phu, ber, ver, mcd</i>
<i>Fusarium</i> sp.	<i>spg</i>
<i>Synchytrium endobioticum</i>	<i>acl, spg, spr</i>
Nicienie	<i>adg, spg, sto, vrn, phu</i>
Owady	<i>chc, cmm</i>
Mróz	<i>acl, cmm, sgr, mlt</i>

* Skróty nazw gatunków *Solanum* wg Simmonds [57].

Gatunki *Solanum* są również cennym źródłem cech jakościowych. Tendencja do nieciemnienia miąższu bulw została stwierdzona w takich gatunkach, jak *S. hjertingii* (*hjt*), *S. polytrichon* (*plt*) i *S. papita* (*pta*) [69]. Wysoka zawartość suchej masy, a co za tym idzie skrobi, została znaleziona w *S. chacoense* (*chc*) i *S. stenotomum* (*stn*) [54], *S. commersoni* (*cmm*) [48] i *S. verneii* (*vrn*) [21].

S. phureja (*phu*) oraz *S. goniocalyx* (*gon*) okazały się gatunkami wykazującymi tendencję do słabej akumulacji cukrów redukujących po przechowaniu w niskich temperaturach [36], jak i gatunkami o wysokich walorach smakowych i podniesionej zawartości białek [10].

Disomiczne dziedziczenie cech

Tetraalleliczność ziemniaka uprawnego *S. tuberosum* ($2n = 4x = 48$) utrudnia proces hodowli. W diploidach ($2n = 2x = 24$) łatwiej prowadzi się selekcję cech poligenicznych, gdyż procent skrajnych segregantów jest w nich wyższy niż w tetraploidach. Ziemniaki 24-chromosomowe są łatwiejszym materiałem do analizy genetycznej, jak też do hodowli rekombinacyjnej niż tetraploidalne formy 48-chromosomowe [25]. Heterozygota diploidalna (*Aa*) po samozapyleniu wydaje po 1/4 homozygot dominujących (*AA*) i recesywnych (*aa*) oraz 1/2 heterozygot (*Aa*). Heterozygot tetraploidalnych są trzy rodzaje (*Aaaa*, *AAaa*, *AAAA*), a po samozapyleniu heterozygoty *Aaaa* (formy analogicznej do *Aa* diploida) uzyskuje się znacznie mniej niż w diplo-

idach homozygot obojga rodzajów (*AAAA*, *aaaa*), bo 1/36 przy segregacji chromosomowej lub 9/196 przy segregacji chromatydowej. Z dziedziczeniem tetraploidalnym związane jest zjawisko podwójnej redukcji prowadzące do wystąpienia chromatyd siostrzanych w jednej gamecie.

Z tych przyczyn akumulacja poszukiwanych alleli i eliminacja niepożądanych jest w diploidach łatwiejsza niż w tetraploidach. Dihaploidy *tbr* łatwo krzyżują się z większością gatunków dzikich i prymitywnie uprawnych. Droga prowadząca do introdukcji pożądanых cech z gatunków dzikich 2x lub prymitywnie uprawnych w materiały hodowlane jest bardziej efektywna na poziomie diploidalnym [45]. Z tych powodów łatwiej też jest prowadzić hodowlę rekombinacyjną pod względem szeregu cech jednocześnie. Złożonego rekombinanta można wyselekcjonować z mniejszej puli siewek i mniej generacji jest potrzebne, aby uzyskać wielocechowe kombinacje [29].

Wykorzystanie dihaploidów *S. tuberosum*

Już w 1939 r. Ivanovskaja otrzymała pierwsze dihaploidy *tbr* w wyniku procesu indukowanej partenogenezy. Do indukcji partenogenetycznej aktywności komórki jajowej stosowane są jako zapylacze inne gatunki lub formy tego samego gatunku o innym poziomie ploidalności niż forma mateczna [53]. Indukcja pseudogamicznego rozwoju komórki jajowej była stymulowana zapylaniem pyłkiem *S. phureja* (*phu*). Najbardziej znane i wydajne są induktory – wyselekcjonowane z *phu*: PI 225 682.1.1, PI 225 682.1.3, PI 225 682.1.22 [47] oraz IvP 35, IvP 48, IvP 101 [26]. Wykazują one wysoki stopień indukcji haploidów (mierzony liczbą otrzymanych nasion z jednej jagody). Posiadają one również geny *P* i *Bd* powodujące pigmentację kotyledonu w zarodku (wyraźnie widoczne ciemne plamki przez okrywę nasiona, ułatwiające negatywną selekcję nasion niepożądanych mieszańców).

Ostatnio zaprezentowane badania molekularne i enzymatyczne dihaploidów *tbr* uzyskanych przy zastosowaniu induktorów *phu* (IvP 48) wskazują, że są one aneusomikami i posiadają pojedyncze chromosomy *phu*, w dihaploidach *tbr* zaś, powstających na drodze zapylania komórki jajowej, następuje stopniowa eliminacja chromosomów [9].

Haploidyzacja *tbr* jest również osiągana przez prowadzenie kultur pylnikowych *in vitro* i proces pseudogametycznej androgenozy [27]. Ta droga haploidyzacji jest oceniana jako system bardziej pracochłonny [51].

Stwierdzono, że stosunkowo łatwo można uzyskiwać dihaploidy z tetraploidalnych klonów hodowlanych oraz odmian [5]. Jednocześnie odkryto, że dihaploidy *tbr* krzyżują się z większością gatunków dzikich i prymitywnie uprawnych [23].

Dihaploidy *tbr* można uznać jako pomost do transferu genów z gatunków dzikich do odmian uprawnych [46]. Mieszańce gatunków *Solanum* z dihaploidami *tbr* wykazują zdecydowany efekt heterozji plonu bulw oraz wyraźnie bardziej kulturalny cha-

rakter niż wyjściowy gatunek *Solanum* [55]. Zjawisko to ułatwia prace hodowlane na poziomie diploidalnym (m.in. w hodowli rekombinacyjnej).

Wykorzystanie gamet $2n$ do transferu potencjału diploidów na poziom tetraploidalny

Przeniesienie potencjału genetycznego form diploidalnych na poziom tetraploidalny, na którym prowadzona jest konwencjonalna hodowla odmian, może być prowadzone poprzez:

- mitotyczną poliploidyzację (endomitozę, c-mitozę),
- meiotyczną poliploidyzację dzięki funkcjonowaniu w ziemniaku diploidalnym mechanizmu tworzenia gamet o niezredukowanej liczbie chromosomów ($2n$),
- somatyczną hybrydyzację $2x (+) 2x$.

Mitotyczna poliploidyzacja. Zastosowanie mitotycznej poliploidyzacji ma obecnie znaczenie marginalne. Metoda była opisana przez Frandsena [15], który stosował moczenie nasion w 0,25% roztworze kolchicyny i uzyskiwał około 50% roślin o zwiększonej liczbie chromosomów. Kolchicyną traktowano również stożki wzrostu indywidualnych roślin, uzyskując ok. 10% roślin o podwojonej liczbie chromosomów [52]. W latach 70. metoda ta była intensywnie wykorzystywana przez zespół Tiemana w Gross Lüsewitz (inf. ustna). Stosowanie kolchicyny jest obarczone wysokim prawdopodobieństwem pojawiania się chimer w potomstwie. Mniejsze zagrożenie powstawania chimer występuje w metodzie wykorzystującej endomitotyczną regenerację form tetraploidalnych z kultur diploidalnego kalusa [3]. Z kolei, przy tej metodzie istnieje zagrożenie wystąpienia somaklonalnej zmienności poliploidyzowanego materiału powodowane przejściem przez fazę kalusa.

Obie wspomniane metody oceniono ponadto jako mało wydajne, co było przyczyną poszukiwania innych form przenoszenia potencjału genetycznego z poziomu $2x$ na poziom $4x$.

Meiotyczna poliploidyzacja. Do przejścia z poziomu $2x$ na $4x$ obecnie najszerzej wykorzystuje się gamety o niezredukowanej liczbie chromosomów ($2n$), które w krzyżowaniach $4x-2x$, $2x-4x$ lub $2x-2x$ powodują powstawanie tetraploidalnego potomstwa. Munzert [43], ankietując 26 europejskich ośrodków pracujących nad diploidami, stwierdził, że w 14 ośrodkach do poliploidyzacji diploidów wykorzystuje się gamety $2n$, w siedmiu zaś wykonywane są fuzje protoplastów.

Gamety $2n$ powstają w wyniku zaburzeń w różnych stadiach mejozy [65], jak:

- premeiotyczne podwojenie,
- replikacja chromosomów w trakcie meiotycznej interfazy,
- postmeiotyczne podwojenie,
- aposporia,
- zaburzenia pierwszego podziału restytucyjnego – First Division Restitution (FDR),
- zaburzenia drugiego podziału restytucyjnego – Second Division Restitution (SDR).

Ze względu na genetyczne konsekwencje, gamety $2n$ można zaszeregować do dwóch modeli: First Division Restitution – FDR i Second Division Restitution – SDR.

Generalnie, cytologicznym procesem prowadzącym do powstania gamet $2n$ FDR jest restytucja jądra zachodząca w pierwszym podziale mejotycznym – po zakończeniu profazy II chromosomy zlewają się i tworzą gamety $2n$, posiadające w swej konstytucji chromatydę niesiostrzane. Obrazem cytologicznym FDR jest zlanie wrzecion kariokinetycznych w metafazie II (*fs*) lub równoległe ułożenie wrzecion w anafazie II (*ps*).

Gamety $2n$ SDR są wynikiem podwojenia chromosomów w jądrze haploidalnym, formowanym po zakończeniu pierwszego podziału mejotycznego i dlatego te gamety posiadają w swej konstytucji chromatydę siostrzane [49]. Obrazem cytologicznym SDR jest przedwczesna cytokineza (*pc-1* i *pc-2*).

Pierwszy model – FDR prowadzi do powstawania homogennych gamet $2n$, które zachowują około 80% rodzicielskiej heterozygotyczności i efektów współdziałań między- i wewnątrzlokusowych.

Drugi model – SDR wytwarza gamety $2n$ heterogenne, o wysokim stopniu homozygotyczności w stosunku do rodzica i przenoszące do 40% heterozygotyczności rodzicielskiej [46].

Oba teoretyczne wyliczenia transferu konstytucji rodzicielskiej w gametach $2n$ zakładają występowanie pojedynczego crossing-over w chromosomach ziemniaka o normalnej synapsji (koniugacji chromosomów w pierwszym podziale mejotycznym). W formach desynaptycznych (cecha warunkowana genem *ds-1*) ograniczenie crossing-over sprawia, że procent homogenności gamet $2n$ FDR osiąga 90,4–97,7% [34].

Heterozja cech w potomstwach krzyżowań $4x-2x$

W tetraploidalnym potomstwie krzyżowań $4x-2x$ FDR oczekuje się większego efektu heterozji niż $4x-2x$ SDR. Wynika to z konstytucji gamet $2n$ FDR zawierających znaczną porcję rodzicielskiego układu genetycznego (wraz z efektami współdziałań). Założenie powyższe potwierdziły badania plonu bulw potomstw powstałych z udziałem gamet $2n$ SDR i FDR [26]. Plon bulw jest w ziemniaku cechą mocno zależną od współdziałań wewnątrz- i międzyallelicznych, stąd większa heterozja plonu osiągnięta przy gametach $2n$ FDR jest argumentem dla hipotezy Mendinburu i in. [42], że gamety $2n$ FDR dają wyraźne korzyści w potomstwie dla cech determinowanych nieaddytywnym działaniem genów.

Problemy w pracach genetyczno-hodowlanych specyficzne dla ziemniaków diploidalnych

W ziemniakach diploidalnych istnieje szereg czynników utrudniających prace genetyczno-hodowlane. Generalnie można je podzielić na takie, które są związane z samym charakterem dihaploidów, bądź gatunków diploidalnych, oraz takie, które ograniczają prowadzenie hodowli rekombinacyjnej z wykorzystaniem różnych gatunków *Solanum*.

Właściwości dihaploidów i diploidów negatywne dla hodowli

Niska płodność i słaby wigor dihaploidów *S. tuberosum* (*dh tbr*, $2x = 24$). Istnieje istotne zróżnicowanie pomiędzy odmianami w podatności na proces haploidy-zacji. Dotyczy to zarówno łatwości uzyskiwania dihaploidów przy indukcji partenogenez, jak i przystosowania odmian do techniki kultur pylnikowych wykorzystywanych przy androgenetycznej produkcji dihaploidów [2]. Odmiany różnią się zdolnością do uzyskiwania z nich dihaploidów [26]. W dihaploidach *tbr* uzyskanych z odmian tetraploidalnych odnotowuje się wyraźną depresję wsobną widoczną w słabym wigorze wzrostu oraz w niskiej plenności. Haploidy-zacja ujawnia efekty działania szeregu letalnych lub subletalnych czynników recesywnych, które w formie poddanej haploidy-zacji ukryte są w stanie heterozygotycznym. Stopień depresji wsobnej występującej w dihaploidach jest ekwiwalentny trzem generacjom wsobnym [25]. Jednym z jej objawów jest niski procent (ok. 50%) kiełkujących nasion dihaploidów [44] oraz znaczny procent (ok. 40%) siewek słabych i zdeformowanych, obumierających wkrótce po wykiełkowaniu [6]. Wśród dihaploidów wchodzących w dalsze fazy wzrostu udział tych, które tuberyzują, stanowi przeciętnie 60%, przy zmienności tej cechy od 22% do 81%, zależnie od haploidy-zowanej formy [26]. Większość uzyskanych dihaploidów pierwotnych („primary dihaploids”), poza słabszym wigorem wzrostu naci i niższą plennością, wykazuje brak zdolności do rozmnażania płciowego. Znaczny procent genotypów dihaploidalnych nie kwitnie. W badaniach Tiemana i Schreitera [66] procent niekwitających dihaploidów wahał się od 6% do 64% w zależności od odmiany, z której je uzyskiwano. Jednocześnie form o obfitym kwitnieniu znaleziono zaledwie 9%.

Wśród dobrze kwitających dihaploidów, te o wysokiej płodności pyłku stanowiły w badaniach Wastie i in. [67] około 1–3%. Natomiast Hutten [26], otrzymując dihaploidy z 20 odmian i 11 rodów tetraploidalnych, stwierdził, że jedynie w 4% dihaploidów występuje męska płodność na poziomie powyżej 60% barwliwości pyłku.

Niska frekwencja męsko- lub żeńskopłodnych dihaploidów jest wskazywana przez wielu autorów jako wąskie gardło w pracy z diploidami [29, 51]. Problem niskiej płodności ulega znacznemu ograniczeniu w pierwszym pokoleniu dihaploidów skrzyżowanych między sobą. Powstają wtedy „interdihaploids” lub „secondary dihaploids” [66], określane w polskiej nomenklaturze jako dihaploidy wtórne. Natomiast zdecydowane poprawienie poziomu płodności, jak i wigoru roślin oraz ich plenności uzyskuje się po pierwszym skrzyżowaniu dihaploidów z gatunkami dzikimi *Solanum* [51, 55]. Uzyskane mieszańce często przejawiają efekt heterozji, najczęściej widoczny w plonie bulw.

Niekorzystne cechy występujące w prymitywnie uprawnych i dzikich gatunkach *Solanum*. Dzikie i prymitywnie uprawne gatunki *Solanum* zostały omówione jako cenne źródło poszukiwanych w hodowli genów odporności czy jakości. Każdy

z tych gatunków poza cechą poszukiwaną jest donorem szeregu cech niekorzystnych, które muszą być wyeliminowane w procesie hodowli.

Gatunki rosnące w Ameryce Południowej, w rejonie Andów, są gatunkami dnia krótkiego. Uprawiane w warunkach dnia długiego wykazują bardzo długi okres wegetacji oraz tendencję do tworzenia długich, mocnych stolonów [51]. W wypadkach skrajnych tworzą bardzo bujną nać i słabo tuberyzują, bądź całkowicie nie tworzą bulw. Wrażliwość fotoperiodyczna jest różna u poszczególnych gatunków. Determinują ją zarówno geny o dużych efektach, jak i poligeny. Adaptacja form andyjskich do warunków dnia długiego wymaga co najmniej dwu-, trzykrotnych krzyżowań wstecznych do *S. tuberosum*. Po 6 krzyżowaniach wstecznych jest notowany istotny postęp w adaptacji fotoperiodycznej oraz we wczesności [50].

Wśród gatunków ziemniaka występuje wyraźne zróżnicowanie długości okresu spoczynku bulw. Negatywnym przykładem gatunku wykazującego brak spoczynku bulw jest *S. phureja* [51]. Do gatunków o wyjątkowo długim spoczynku należy *S. chacoense*.

Bulwy tuberyzujących gatunków dzikich są na ogół drobne, niekształtne, o głębokich oczkach. Często występuje u nich silne zabarwienie antocyjanowe skórki i miąższu. Rozmieszczenie zabarwienia w różnych organach ziemniaka jest determinowane współdziałaniem genów głównych, a liczba genów jest zależna od badanego gatunku [24].

Przy pracach hodowlanych nad uzyskaniem form odpornych na choroby i szkodniki, jak i form o podwyższonej suchej masie często wykorzystuje się gatunki, które wykazują tendencję do podniesionego poziomu glikoalkaloidów [58].

Istnieje szereg gatunków dzikich o podniesionym poziomie glikoalkaloidów [18]. *S. chacoense*, gatunek wykorzystywany w hodowli jako źródło wysokiej zawartości suchej masy, jak również odporności na patogeny i owady, jest notowany jako posiadający tendencję do gromadzenia glikoalkaloidów. Wielu autorów wskazuje na konieczność testowania poziomu glikoalkaloidów w formach rodzicielskich, które powstały przy udziale gatunków dzikich [18].

Introgresja genów z gatunków dzikich do hodowlanej puli genetycznej jest obecnie procesem złożonym. Po uzyskaniu formy mieszańcowej pomiędzy gatunkiem dzikim a *S. tuberosum* wymagane jest przeprowadzenie szeregu krzyżowań wstecznych do form uprawnych połączonych z selekcją na pożądany fenotyp uprawny.

Wprowadzenie biotechnologii do uzyskiwania form mieszańcowych może proces introgresji usprawnić poprzez uzyskiwanie cybrydów bądź niesymetrycznych, międzygatunkowych mieszańców somatycznych o przewadze cech form uprawnych. Bardziej specyficzne może być zastosowanie klonowania poszukiwanych genów z gatunków nieuprawnych i wprowadzanie ich metodą transformacji do puli uprawnego ziemniaka.

Gametofityczny system samoniezgodności (Si) występujący w ziemniakach diploidalnych. W diploidalnych gatunkach *Solanum* funkcjonuje mechanizm samo-

niezgodności (S_i) warunkowany serią alleli S , który zapobiega samopylności gatunków. Brak tego mechanizmu stwierdzono jedynie u pięciu gatunków diploidalnych, które są samozgodne (S_c): *S. verrucosum*, *S. morelliforme*, *S. etuberosum*, *S. brevifolium*, *S. polyadenium* [22]. Mechanizm samoniezgodności nie funkcjonuje u tetra- i hexaploidalnych gatunków *Solanum*.

Bariery krzyżowania międzygatunkowego

W pracach hodowlanych często wykonuje się krzyżowania międzygatunkowe, mając na celu introgresję genów z gatunków dzikich i prymitywnie uprawnych do ziemniaka uprawnego. Tego typu krzyżowania mają również na celu prowadzenie hodowli rekombinacyjnej, w której dąży się do uzyskania połączenia szeregu pożądanych cech pochodzących od różnych gatunków. Krzyżując formy *Solanum* sp. między sobą, napotyka się na szereg barier ograniczających ich krzyżowalność:

EBN (Endosperm Balance Number) – efektywny poziom ploidalności. EBN jest to efektywny poziom ploidalności endospermu każdego gatunku – czyli poziom, na którym dany gatunek może formować funkcjonalny endosperm [32]. Gatunki *Solanum* mają 1, 2 lub 4 EBN – oznacza się tę liczbę poprzez krzyżowania testowe do standardów 1 EBN, 2 EBN, 4 EBN [19]. Aby rozwój zarodka był niezakłócony, stosunek endospermu rodziców (matka : ojciec) musi być jak 2 : 1. Formy o tym samym EBN powinny się krzyżować między sobą. Jeśli zamiarem jest skrzyżowanie form o różnym poziomie EBN, to w krzyżowaniu należy wykorzystać zjawisko tworzenia gamet $2n$, ewentualnie haploidyzację lub poliploidyzację jednej z form rodzicielskich.

Jednokierunkowa niezgodność ($S_c \times S_i > S_i \times S_c$). W 1972 r. Abdalla i Hermsen stwierdzili, że łatwiej krzyżują się gatunki samozgodne z gatunkami samoniezgodnymi (S_i), gdy forma mateczna jest samozgodna (S_c). Zjawisko to było tłumaczone niższym poziomem czynników gatunkowej niezgodności w pyłku i słupku w gatunkach S_c niż w gatunkach S_i [22].

Męska sterylność mieszańców międzygatunkowych. Męska sterylność często występuje w mieszańcach międzygatunkowych i jest efektem współdziałania wrażliwej cytoplazmy żeńskiego rodzica i genów jądrowych formy ojcowskiej [35]. Interakcja cytoplazmatyczno-jądrowa jest notowana, gdy uzyskuje się mieszańce pomiędzy dihaploidami *tbr* a innymi gatunkami *Solanum* i gdy *tbr* jest formą mateczną.

Schematy prac z diploidami ziemniaka

W 1963 r. Chase opublikował teoretyczny model prowadzenia prac z diploidami ziemniaka. W pierwszym etapie postulował on otrzymywanie homozygotycznych dihaploidów *S. tuberosum* poprzez androgenezę lub gynogenezę *in vitro* ($4x \rightarrow 2x \rightarrow x \rightarrow 2x$) i krzyżowanie ich z diploidalnymi dzikimi gatunkami *Solanum*. Model

zakładał dążenie do uzyskania maksimum heterozygotyczności w materiałach hodowlanych. Uzyskiwano je poprzez prowadzenie samozapylenia lub krzyżowań siostrzanych w obrębie poszczególnych pochodzeń w celu ich homozygotyzacji, a następnie przekrzyżowania między rodami o różnych pochodzeniach. Poziom tetraploidalny w schemacie był uzyskiwany poprzez poliploidyzację meiotyczną (gamety $2n$) lub mitotyczną.

W modelu hodowli analityczno-syntetycznej Wenzla i in. [68] homozygotyzacja i otrzymywanie form diploidalnych była postulowana poprzez prowadzenie kultur pylnikowych *S. tuberosum*. Aby uzyskać formy tetraploidalne, mieszańce diploidalne uzyskane pomiędzy klonami o różnym pochodzeniu były wykorzystane do fuzji protoplastów.

Mendinburu i in. [42] w swoich pracach kładli nacisk na wykorzystanie heterozji w potomstwach tetraploidalnych otrzymanych z krzyżowań z diploidami tworzącymi gamety $2n$, dlatego – po preselekcji w obrębie gatunku dzikiego na daną cechę i obecność gamet $2n$ (FDR lub SDR) – wykonywano krzyżowania interploidalne różnego typu ($4x-2x$, $2x-4x$, $2x-2x$) w celu uzyskania potomstw tetraploidalnych.

Schemat pracy z diploidami w ZGiMWZ IHAR Młochów

Prace na poziomie diploidalnym prowadzone są w IHAR Oddział Młochów od 1970 r. [64]. Synteza diploidalnych mieszańców międzygatunkowych ukierunkowana jest na stworzenie nowej generacji materiałów wyjściowych do hodowli odmian, która poza rozszerzeniem puli genetycznej będzie oferować hodowli złożone komponenty przenoszące swój potencjał genetyczny na potomstwo $4x$ z ograniczoną rekombinacją [74]. Hodowla diploidów prowadzona jest zgodnie z następującymi założeniami:

- preselekcja w obrębie gatunków *Solanum* w celu podniesienia poziomu poszukiwanej cechy jakości lub odporności;
- otrzymanie puli dihaploidów *tbr* z odmian i rodów, ich preselekcja;
- krzyżowanie wyselekcjonowanych klonów w obrębie gatunków *Solanum* z dihaploidami *tbr*;
- 5–7 cykli hodowli rekombinacyjnej pomiędzy prostymi a następnie złożonymi mieszańcami międzygatunkowymi w celu uzyskania formy łączącej wybrane cechy jakości i odporności na ważniejsze patogeny ziemniaka;
- transfer potencjału diploidalnego rodzica ($2x$) na poziom $4x$ poprzez działanie gamet $2n$ w krzyżowaniach $4x-2x$ [73].

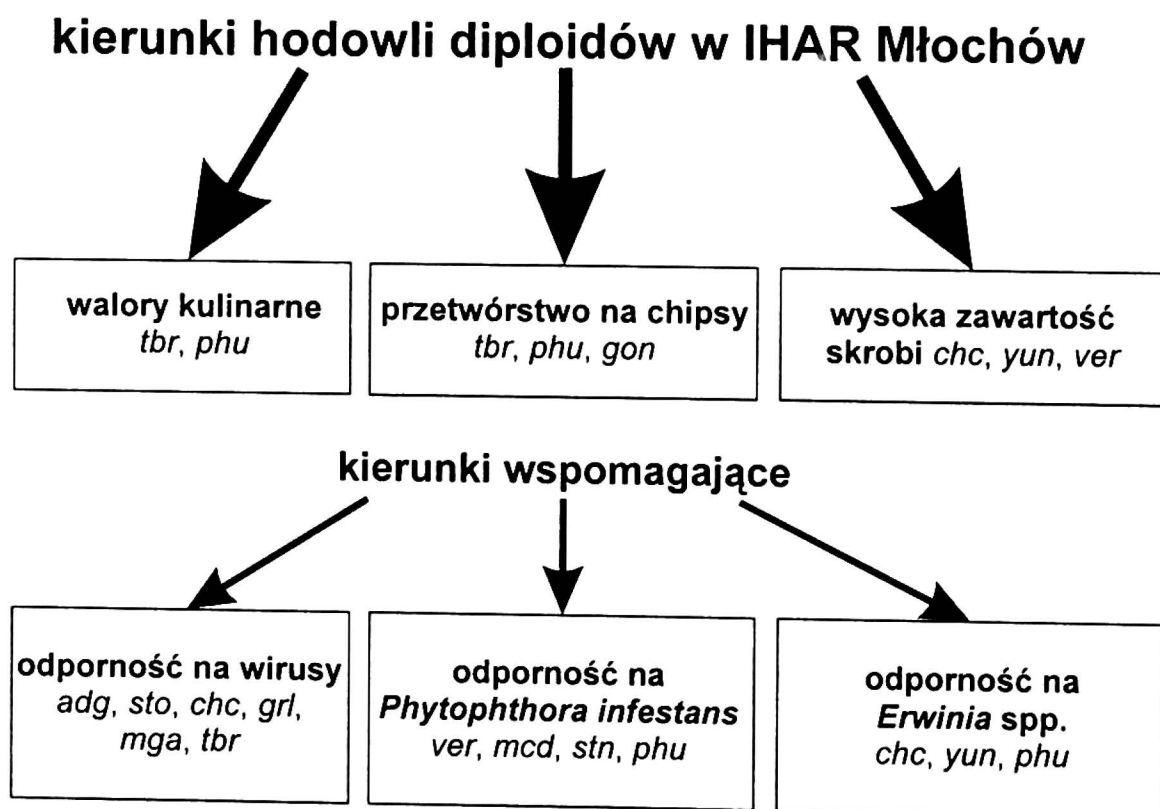
Kierunki hodowli diploidów w ZGiMWZ, IHAR w Młochowie

Od początku lat siedemdziesiątych pracowano nad wyselekcjonowaniem form wyróżniających się wysoką zawartością skrobi, wczesnym plonem skrobi, odporno-

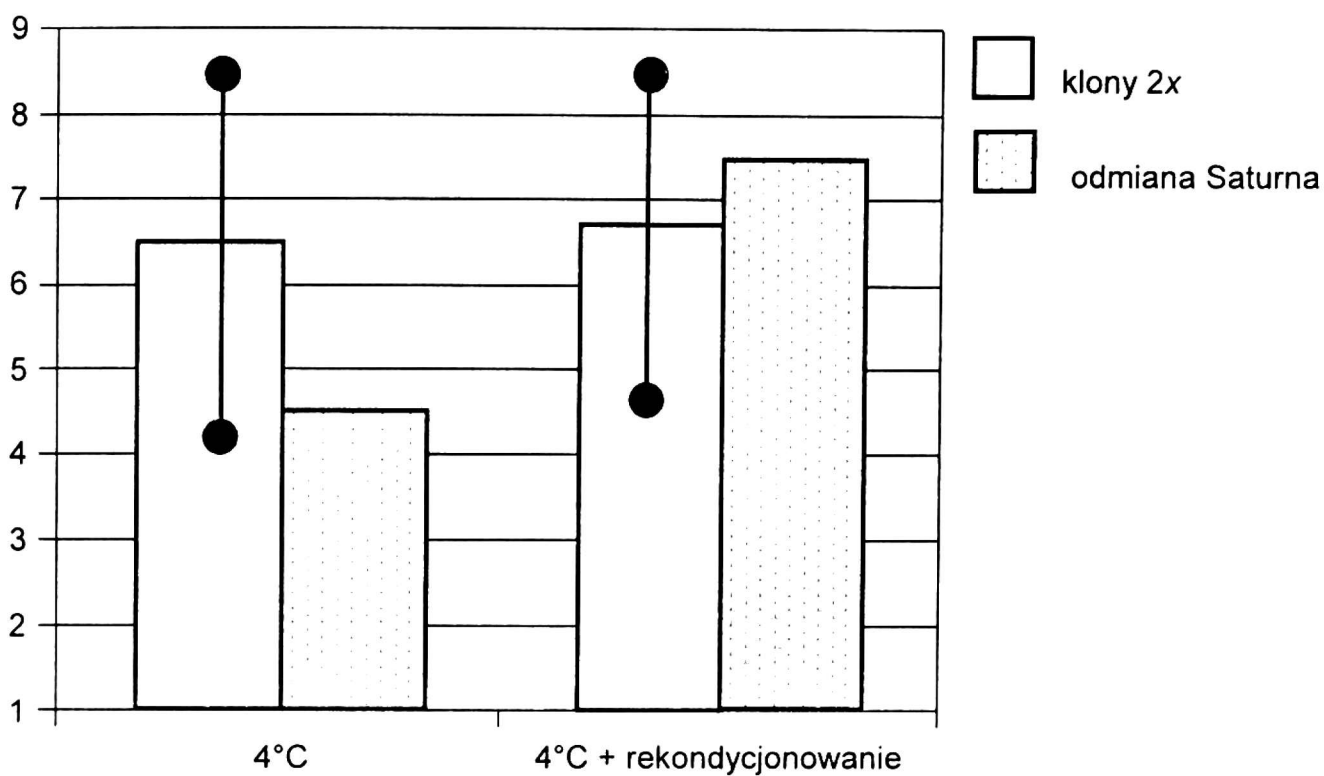
ścią na ważniejsze wirusy ziemniaka (PVY, PLRV, PVM i PVS) i odpornością na zarazę ziemniaka. Obecnie prowadzona synteza materiałów diploidalnych ukierunkowana jest na trzy wiodące kierunki użytkowania ziemniaka (wysokie walory kulinarne, przydatność do przetwórstwa na chipsy oraz wysoką zawartość skrobi), zaś grupy klonów kompleksowo odpornych na wirusy, odpornych na zarazę ziemniaka lub odpornych na mokrą zgniliznę bulw i czarną nóżkę są traktowane jako kierunki wspomagające. Na schemacie hodowli diploidów w IHAR Młochów (rys. 1), obok nazw kierunków, umieszczono skróty nazw gatunków, które były wykorzystane w hodowli jako źródła poszukiwanych właściwości.

Program diploidalny prowadzony w IHAR Młochów od 1970 r. należy do większych w skali światowej. W latach 1970–1993 prowadzono od 1 do 20 tysięcy diploidalnych siewek polowych, przy przeciętnej ok. 8 tysięcy siewek rocznie [64]. Skala prac uległa pewnej redukcji w latach 90. w związku z ograniczeniem środków na badania.

W ramach prowadzonej syntezy oczekuje się, że tworzone komponenty diploidalne będą mieć odporność na podstawowe patogeny ziemniaka i dodatkowo będą wyróżniać się cechami związanymi z planowanym kierunkiem użytkowania. Zakładamy, że diploidalna germplazma będzie wzbogacać zmienność tetraploidalnych materiałów hodowlanych, a ponadto stwarzać szansę na uzyskanie postępu w badanych właściwościach. I tak grupa klonów diploidalnych o walorach konsumpcyjnych przeciętnie wykazuje niższą skłonność do ciemnienia miąższu bulw surowych i gotowanych niż badane standardowe odmiany. Jednocześnie smak bulw klonów tej grupy jest na poziomie tetraploidalnych wzorców [30].



Rysunek 1. Kierunki hodowli na poziomie diploidalnym prowadzonej w IHAR Oddział Młochów realizowane w 2001 r.



Rysunek 2. Średni poziom barwy chipsów i zakres cechy w klonach 2x i odmianie Saturna bezpośrednio po przechowaniu ich w 4°C oraz po rekondycjonowaniu w 18°C przez 2 tygodnie (lata 1998–1999)

W grupie klonów diploidalnych wykazujących przydatność do przetwórstwa na chipsy uzyskano istotny postęp w jasnej barwie chipsów. W klonach diploidalnych przechowywanych przez 5 miesięcy w 4°C uzyskano po wysmażeniu zdecydowanie jaśniejsze chipsy niż w przechowywanej w podobnych warunkach standardowej odmianie Saturna, która jest uznanym wzorcem międzynarodowym dobrej przydatności do przetwórstwa na chipsy (rys. 2).

W obu wymienionych grupach klonów diploidalnych cechą dodatkową jest niska tendencja do zielenienia bulw w ekspozycji świetlnej, która jest bardzo pożądana w odmianach jadalnych i przetwarzanych. Z kolei w grupie klonów o wysokiej zawartości skrobi w bulwach występują mieszańce, w których zawartość skrobi osiąga 30%, a średnia zawartość skrobi w bulwach oraz morfologia bulw jest na poziomie 110% wzorca tetraploidalnego [71].

W syntezie klonów odpornych na *Phytophthora infestans* wykorzystywane są gatunki *Solanum* wykazujące odporność na zarazę ziemniaka: *ver*, *mcd*, *stn*, *phu*. Celem jest uzyskanie form odpornych na zarazę ziemniaka w naci i bulwach o odporności, która będzie trudna do przełamania przez populację patogenu występującą w Polsce. Klony są selekcjonowane w testach laboratoryjnych oraz w warunkach polowych w rejonach Polski, w których tradycyjnie występuje duże nasilenie epifitozy zarazy ziemniaka. Wybrane mieszańce odporne na zarazę ziemniaka przedstawione są w tabeli 2.

Tabela 2. Charakterystyka wybranych klonów diploidalnych odpornych na zarazę ziemniaka na tle odmian wzorcowych

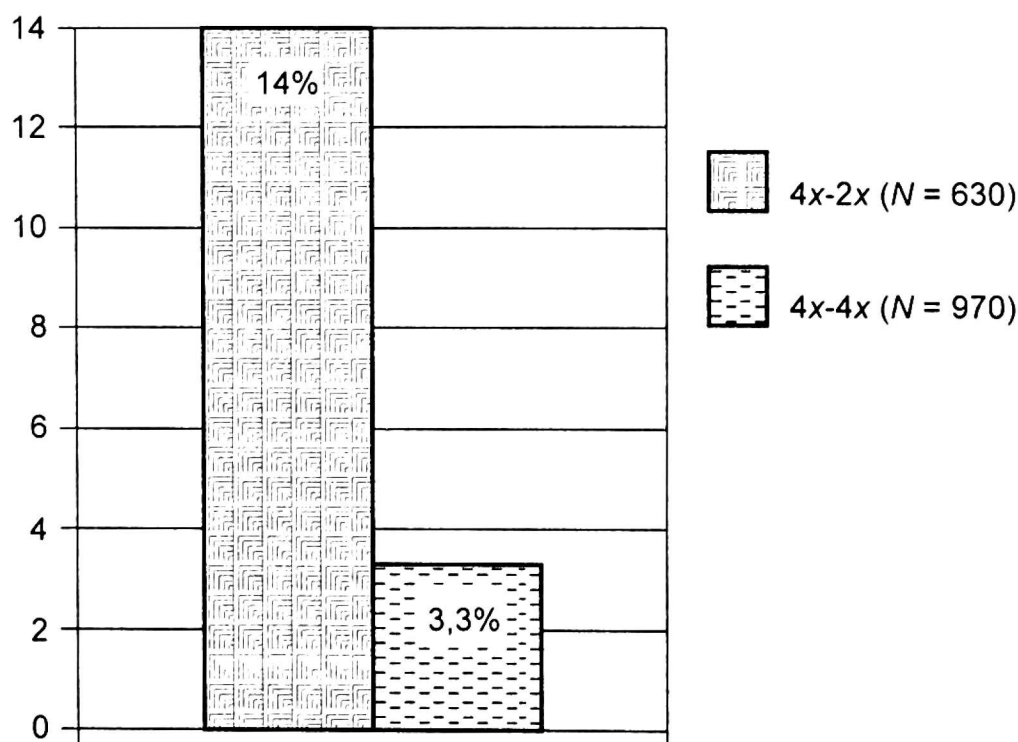
Klony 2x i odmiany	Źródło odp. na <i>P. infestans</i>	Odporność na <i>P. infestans</i>			Plon bulw [g na krzak]	Ciężar bulwy [g]	Inne odporności*
		listki (1–9)	plastry (1–9)	poraż. nat. (rAUDPC)			
DG 91-234	<i>phu</i>	9,0	6,5	0,221	330	51	X, Y
D8 330	<i>ver, mcd</i>	9,0	8,0	0,159	910	39	X, Y, M, Sy
D4 35	<i>phu, ver</i>	9,0	9,0	0,139	680	42	X, Y, L
D5 26	<i>mcd</i>	6,3	8,3	0,088	430	30	X, Y
Bzura (R)		6,5	5,4	0,140	1250	79	
Irys (S)		1,6	2,9	0,761	950	65	

* X, Y, M, L, Sy – odporności na: PVX, PVY, PVM, PLRV, *Synchytrium endobioticum*.

W grupie klonów diploidalnych odpornych na bakterie *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* wyróżniono formy odporne na mokrą zgniliznę bulw oraz na czarną nóżkę. Źródłem odporności na obie choroby bakteryjne są gatunki *chc*, *yun* lub *phu* [75, 76].

Transfer potencjału diploidalnego rodzica (2x) na poziom tetraploidalny poprzez krzyżowania 4x-2x

Wyselekcjonowane złożone mieszańce 2x są testowane pod kątem tworzenia męskich gamet 2n poprzez ocenę udziału dużych ziaren pyłku (o średnicy powyżej 25 μM) oraz ocenę ilości wiązanych nasion na jagodę i ploidalności potomstwa w krzyżowaniach testowych 4x-2x. Porównanie nieselekcjonowanych potomstw (rys. 3) pocho-



Rysunek 3. Przebieg selekcji potomstw z krzyżowań 4x-2x i 4x-4x przy następujących kryteriach selekcji: wielkość bulwy, ciężar bulwy, barwa chipsów oraz głębokość oczek >6,5 (w skali 1–9), plon bulw >1000 g na krzak, regularność kształtu >7, ciemnienie mięszu po gotowaniu >8, brak defektów wewnętrznych bulw i wzrostu wtórnego

dzących z krzyżowań $4x-2x$ i $4x-4x$ wykazało, że większy procent siewek polowych z krzyżowań interploidalnych $4x-2x$ spełnia kryteria selekcji na cechy użytkowe i morfologiczne niż z tradycyjnych krzyżowań $4x-4x$ [11].

Ważniejsze programy diploidalne były lub są realizowane w ośrodkach naukowych amerykańskich (na Uniwersytecie Stanu Wisconsin, w USDA w Beltsville), holenderskich (IVP oraz PBI w Wageningen), niemieckich (MPI w Kolonii, BAZ w Gross Lüsewitz), czeskim (VUB w Havlickuv Brod), w Międzynarodowym Instytucie Ziemniaka (CIP) w Peru. W Polsce obok IHAR prowadzony jest program diploidalny w SGGW w Warszawie.

Odmian ziemniaka uzyskanych bezpośrednio z linii diploidalnych w wyniku krzyżowań interploidalnych lub poliploidyizacji somatycznej jest zaledwie kilka w świecie [33]. Jednak coraz częściej można odnotować wykorzystanie diploidów przez firmy hodowlane w programach krzyżowań na wcześniejszych etapach hodowli odmian [12].

Ziemniak diploidalny w pracach badawczych

Badania genetyczne ziemniaka prowadzone są najczęściej na poziomie diploidalnym. Na ziemniakach 24-chromosomowych prowadzi się badania mające na celu poznanie dziedziczenia cech, uzyskiwanie mieszańców somatycznych ziemniaka, poznaniem mapy genomu ziemniaka oraz prace, w których poszukiwane są markery molekularne wybranych cech hodowlanych. Prace badawcze na poziomie diploidalnym będą przedstawione w kontekście badań prowadzonych przez pracowników Zakładu Genetyki i Materiałów Wyjściowych Ziemniaka IHAR.

Poznanie dziedziczenia cech w ziemniakach diploidalnych

Dla racjonalnego prowadzenia materiału hodowlanego ważna jest znajomość podstaw genetycznego uwarunkowania cech, na które prowadzona jest selekcja. W ZGiMWZ prowadzone są badania, głównie na poziomie diploidalnym, określające genetyczny charakter odporności na patogeny, takie jak: ważniejsze wirusy (PVY, PVM, PVS, PLRV), *P. infestans* [63], czy *Erwinia* spp. Badane jest również dziedziczenie cech jakościowych: zawartości skrobi [70], cukrów redukujących [31], nieciemnienia miąższu bulw itd. Zasada poznania reguł dziedziczenia zwłaszcza dotyczy cech, dla poprawiania których wykorzystano nowe źródła genetyczne wywodzące się z dzikich i prymitywnie uprawnych gatunków ziemniaka.

Mieszańce somatyczne

Fuzja protoplastów jest wskazywana jako potencjalnie pomocnicza technologia do zastosowania w nowoczesnej hodowli rekombinacyjnej ziemniaka w trzech aspektach:

- łączenia między sobą dihaploidów *tbr* lub diploidów,
- fuzjonowania różnych gatunków *Solanum*,

— uzyskiwania mieszańców międzyrodzajowych.

Poszukując nowych źródeł odporności na zarazę ziemniaka użytecznych w hodowli odmian, w IBB-PAN we współpracy z IHAR Młochów otrzymano i przeanalizowano pod kątem odporności na *Phytophthora infestans* mieszańce somatyczne *S. nigrum* (+) *S. tuberosum* oraz *S. tuberosum* (+) *S. bulbocastanum*. Uzyskano wiele linii mieszańcowych wysoko odpornych na zarazę ziemniaka w listkach [62]. W celu uzyskania tetraploidalnych linii hodowlanych w IHAR oraz IBB-PAN prowadzone są prace nad fuzją mieszańców diploidalnych ziemniaka pochodzących z Młochowa.

Mapowanie genomu ziemniaka

W ostatnim dziesięcioleciu, wykorzystując poziom diploidalny ziemniaka, rozpoczęto intensywne opracowywanie mapy genetycznej ziemniaka, na której lokalizowane są geny warunkujące cechy ważne w hodowli. Genetyczna analiza diploidalnych populacji potomnych F_1 jest podstawą do konstrukcji map sprzężeń markerów molekularnych w ziemniaku.

Pierwsza mapa ziemniaka powstała w 1988 r. [4] na podstawie charakterystyki populacji międzygatunkowej: *phu* × (*tbr* × *chc*), miała długość 700 cM i obejmowała 135 loci. Tworząc kolejną mapę wykorzystano populację wewnątrzgatunkową: *tbr* × *tbr*; miała ona długość 690 cM i zlokalizowane 141 loci [16]. Pierwsza mapa zintegrowana została opracowana we współpracy naukowców z Cornell University i Instytutu Maxa Plancka i miała długość 1034 cM oraz zlokalizowane 304 loci [17].

W ciągu ostatnich lat zlokalizowano na chromosomach ziemniaka szereg genów głównych warunkujących m.in:

- Odporność na PVY (chromosom XI), PVX (chromosomy V i XII), PLRV (chromosom XI) [40], nicienie (chromosomy VII i V), *P. infestans* R1, R3, R6, R7 [14, 37] (chromosomy V i XI), raka (chromosom XI).
- Cechy fizjologiczne, morfologiczne: samoniezgodność S1, S2, S3 (chromosom I), desynapsja *ds* (chromosom VIII), antocyjanowe zabarwienie kwiatów (chromosom II), żółty miąższ bulw (chromosom V), kształt bulw (chromosom X), kolor kwiatów (chromosom X) [13].

Została też poznana lokalizacja locii szeregu cech warunkowanych poligenicznie (QTL) m.in:

- zdolność tuberyzacji,
- zawartość skrobi w bulwach [56],
- barwa chipsów,
- odporność na *P. infestans* [38],
- odporność na *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica* [77],
- metabolizm i transport węglowodanów – (mapa funkcjonalno-molekularna) [8].

Wykorzystanie markerów molekularnych w selekcji rodów diploidalnych

Znajomość sprzężeń pomiędzy genami ważnych cech a markerami molekularnymi pozwala na wprowadzanie do hodowli ziemniaka, podobnie jak się to dzieje w innych roślinach uprawnych, selekcji form z wykorzystaniem analizy ich DNA. Jest to metoda znacznie szybsza i często tańsza od dotychczas stosowanej selekcji opartej na określaniu reakcji fenotypów w różnego rodzaju testach. Jest wiele markerów PCR-owych wykorzystywanych w selekcji: RAPD, SCAR, CAPS, SSR, ISSR [39]. W praktycznej hodowli ziemniaka, na lokalną skalę, ma zastosowanie selekcja markerami form odpornych na nicienie (*Gro1*), PVS (*Ns*) oraz PVY (*Ry_{adg}*).

W IHAR zostały opracowane markery:

- dla genu *Ns* warunkującego odporność na PVS (RAPD, SCAR, ISSR) – Marczewski i in. [41],
- dla genu *Gm* warunkującego odporność na PVM (ISSR) – Strzelczyk-Żyta i Marczewski [61],
- w opracowaniu są markery dla genów odporności na PLRV – Marczewski (inf. ustna).

Perspektywa wykorzystania ziemniaków diploidalnych

Reasumując dotychczasowe prace z ziemniakami diploidalnymi, można prognozować, że będą one w przyszłości wykorzystywane w następujących obszarach:

- tworzenie nowej generacji materiałów wyjściowych dla komercyjnej hodowli odmian – od nowego źródła cechy do formy rodzicielskiej;
- badania genetyczne ziemniaka – lokalizacja genów na mapie genetycznej ziemniaka;
- poligon dla badań wyprzedzających hodowlę – wprowadzanie nowych technik do hodowli ziemniaka (fuzja protoplastów, selekcja markerami molekularnymi, haploidyżacja).

Zespół realizatorów programu diploidalnego
w IHAR, Oddział Młochów, w latach 1968–2001

Kreatorem koncepcji prac nad ziemniakiem na poziomie diploidalnym w IHAR, Oddział Młochów, był Profesor Świeżyński. W realizacji tego programu i jego twórczym rozwoju brało udział wiele osób, których nazwiska podane są w porządku alfabetycznym: Maria Dziewońska, Marek Gawroński, Henryka Jakuczun, Renata Lebecka, Waldemar Marczewski, Małgorzata Milej-Pietkiewicz, Marzenna Osiecka, Krystyna Ostrowska, Ewa Sawicka-Sienkiewicz, Danuta Strzelczyk-Żyta, Eugeniusz Sykała, Kazimierz Świeżyński, Iwona Wasilewicz-Flis, Ewa Zimnoch-Guzowska.

- [1] Abdalla M.M.F., Hermsen J.G.Th. 1972. Unilateral incompatibility: Hypothesis debate and its implications for plant breeding. *Euphytica* 21: 32–47.
- [2] Bartels D., Gebhardt C., Knapp S., Rodhe W., Thompson R., Uhrig H., Salamini F. 1988. Combining conventional plant breeding procedures with molecular based approaches. *Genome* 31: 1014–1026.
- [3] Behnke M. 1975. Regeneration in Gewebekulturen einiger dihaploider *Solanum tuberosum* – Klone. *Z. Pflanzenzücht.* 75: 262–265.
- [4] Bonierbale M.W., Plaisted R.L., Tanksley S.D. 1988. RFLP analysis based on common set of clones reveal modes of chromosomal evolution in potato and tomato. *Genetics* 120: 1095–1103.
- [5] Breukelen E.W.M. van 1981. Pseudogamic production of dihaploids and monoploids in *Solanum tuberosum* and some related species. Ph.D. Thesis, Agricultural University, Wageningen: 121 ss.
- [6] Caligari P.D.S., Powell W., Liddell K., de Maine M.J., Swan G.E.L. 1988. Methods and strategies for detecting *Solanum tuberosum* dihaploids in interspecific crosses with *S. phureja*. *Ann. Appl. Biol.* 112: 323–328.
- [7] Chase S.S. 1963. Analytic breeding in *Solanum tuberosum* L. – a scheme utilizing parthenotes and other diploid stocks. *Can. J. Genet. Cyt.* 5, 4: 359–363.
- [8] Chen X., Salamini F., Gebhardt C. 2001. A potato molecular-functional map for carbohydrate metabolism and transport. *Theor. Appl. Genet.* 102: 284–295.
- [9] Clulow S.A., Wilkinson M.J., de Maine M.J. 1992. Dihaploid formation – a new hypothesis. W: E. Rousselle-Bourgeois i P. Rousselle (red.), Proc. joint conf. EAPR Breeding and Varietal Assessment Section / EUCARPIA Potato Section, Landerneau, France: 165–169.
- [10] Desborough S., Wieser C.J. 1972. Protein comparison in selected *Phureja* – Haploid *Tuberosum* families. *Amer. Potato J.* 46: 1–4.
- [11] Domański L., Domańska M., Jakuczun H. 2000. Ocena potomstw i klonów ziemniaka uzyskanych z krzyżowań interploidalnych (4x-2x). *Biul. IHAR* 216: 497–503.
- [12] Dudek Z. 1988. Ibis-nowa odmiana pochodzenia diploidalnego. *Hodowla Roślin i Nasiennictwo. Biuletyn Branżowy* 3: 11–14.
- [13] Eck H.J. van 1995. Localisation of morphological traits on the genetic map of potato using RFLP and isozyme markers. Ph.D. Thesis, Wageningen Agricultural University. ISBN 90-5485-342-5: 146 ss.
- [14] Elkarbotly A., Pereira A., Stiekma W.J., Jacobsen E. 1996. Race-specific resistance against *Phytophthora infestans* in potato is controlled by more genetic factors than only R-genes. *Euphytica* 90: 331–336.
- [15] Frandsen N.O. 1967. Haploidproduktion aus einem Kartoffelzuchtmaterial mit intensiver Wildarteinkreuzung. *Züchter* 37: 120–134.
- [16] Gebhardt C., Ritter E., Debener T., Schachtschabel U., Walkemeier B., Uhrig H., Salamini F. 1989. RFLP analysis and linkage mapping in *Solanum tuberosum*. *Theor. Appl. Genet.* 78: 65–75.
- [17] Gebhardt C., Ritter E., Barone A., Debener T., Walkemeier B., Schachtschabel U., Kaufmann H., Thompson R.D., Bonierbale M.W., Ganai M.W., Tanksley S.D., Salamini F.

1991. RFLP maps of potato and their alignment with the homoeologous tomato genome. *Theor. Appl. Genet.* 83: 49–57.
- [18] Gelder W.M.J. van, Vinke J.H., Scheffer J.J.C. 1988. Steroidal glycoalkaloids in tubers and leaves of *Solanum* species used in potato breeding. *Euphytica* 48: 147–158.
- [19] Hanneman Jr. R.E. 1994. Assignment of endosperm balance numbers to the tuber-bearing solanums and their close non-tuber-bearing relatives. *Euphytica* 74: 19–25.
- [20] Hawkes J.G. 1990. The potato, evolution, biodiversity and genetic resources. Belhaven Press, London: 256 ss.
- [21] Hermsen J.G.Th. 1977. Incorporation of new germplasm: Wild species. W: Planning conference on the utilization of genetic resources of the potato II. The International Potato Center (CIP), Lima, Peru: 91–108.
- [22] Hermsen J.G.Th., Sawicka E.J. 1979. Incompatibility and incongruity in tuber bearing *Solanum* species. *Biol. Taxonomy Solanaceae, Linn. Soc. Symp.* 7: 445–454.
- [23] Hougas R.W., Peloquin S.J. 1960. Crossability of *Solanum tuberosum* haploids with diploid *Solanum* species. *Eur. Potato J.* 3: 325–330.
- [24] Howard H.W. 1969. Genetics of the potato *Solanum tuberosum*. Logos Press Limited: 126 ss.
- [25] Howard H.W. 1978. The production of new varieties. W: The potato crop. P.M. Harris (red.). Chapman & Hall, London: 607–646.
- [26] Hutten R.C.B. 1994. Basic aspects of potato breeding via the diploid level. Ph.D. Thesis, WAU Wageningen: 93 ss.
- [27] Irikura Y., Sakaguchi S. 1972. Induction of 12-chromosome plants from anther culture in a tuberous *Solanum*. *Potato Res.* 15: 170–173.
- [28] Ivanovskaja E.V. 1939. A haploid plant of *Solanum tuberosum* L. C.R. (Doklady) *Akad. Sci. USSR* 24: 517–520.
- [29] Iwanaga M. 1982. Breeding at 2x level for combined pest and disease resistance using wild species and extracted haploids from selected tetraploid clones. Rep. plann. conf.: Utilization of genetic resources of the potato., III CIP, Lima 1980: 110–124.
- [30] Jakuczun H. 2000. Prace nad ziemniakiem diploidalnym wyróżniającym się przydatnością do bezpośredniej konsumpcji. W: Ziemniak spożywczy i przemysłowy oraz jego przetwarzanie. Mat. z konf. Polanica Zdrój, 8–11 maja 2000, Wrocław: 118–119.
- [31] Jakuczun H., Zgórska K., Zimnoch-Guzowska E. 1995. An investigation of the level of reducing sugar in diploid potatoes before and after cold storage. *Potato Res.* 38: 331–338.
- [32] Johnston S.A., Hanneman R.E. 1980. Support of the Endosperm Balance Number Hypothesis using some tuber-bearing *Solanum* species. *Amer. Potato J.* 57: 7–14.
- [33] Johnston G.R., Rowberry R.G. 1981. Yukon Gold : a new yellow-fleshed, medium-early, high quality table and French-fry cultivar. *Amer. Potato J.* 58:241–244.
- [34] Jongedijk E. 1991. Desynapsis and FDR 2n megaspore formation in diploid potato; potentials and limitations for breeding and for the induction of diplosporic apomixis. Ph.D. Thesis, WAU Wageningen: 111 ss.
- [35] Lamm R. 1953. Investigations on some tuber-bearing *Solanum* hybrids. *Hereditas* 39: 97–112.
- [36] Lauer F., Shaw R. 1970. A possible genetic source for chipping potatoes from 40°F. *Amer. Potato J.* 47: 275–278.

- [37] Leonards-Schippers C., Gieffers W., Salamini F., Gebhardt C. 1992. The R1 gene conferring race-specific resistance to *Phytophthora infestans* in potato is located on potato Chromosome V. *Mol. Gen. Genet.* 233: 278–283.
- [38] Leonards-Schippers C., Gieffers W., Schäfer-Pregl R., Ritter E., Knapp S.J., Salamini F., Gebhardt C. 1994. Quantitative resistance to *Phytophthora infestans* in potato: a case study for QTL mapping in an allogamous plant species. *Genetics* 137: 67–77.
- [39] Marczewski W. 1999. Sposoby identyfikacji markerów RAPD w roślinach. *Biotechnologia* 1(44): 106–115.
- [40] Marczewski W., Flis B., Syller J., Schäfer-Pregl R., Gebhardt Ch. 2001. A major quantitative trait resistance to potato leafroll virus is located in a resistance hotspot on potato chromosome XI and Is tightly linked to N-gene-like markers. *MPMI* 14(12): 1420–1425.
- [41] Marczewski W., Ostrowska K., Zimnoch-Guzowska E. 1998. Identification of RAPD markers linked to the Ns locus in potato. *Plant Breed.* 117: 88–90.
- [42] Mendiburu A.O., Peloquin S.J., Mok D.W.S. 1974. Breeding with haploids and 2n gametes. W: Haploids in higher plants. K.J. Kasha (red.). Univ. of Guelph: 249–258.
- [43] Munzert M. 1989. Results of a questionnaire „potato breeding at the diploid level”. W: Parental line breeding and selection in potato breeding. Louwes K.M., Toussaint H.A.J.M. i Dellaert L.M.W. (red.). Pudoc Wageningen: 172–177.
- [44] Neele A.E.F., Louwes K.M. 1986. The analytic breeding method: possibilities for potato breeding. W: Potato research of tomorrow. Beekman A.G.B., Louwes K.M., Dellaert L.M.W. i A.E.F. Neele (eds) Pudoc Wageningen: 107–114.
- [45] Ortiz R., Peloquin S.J. 1994. Use of 24-chromosome potatoes (diploids and dihaploids) for genetical analysis. W: Potato genetics. J.E. Bradshaw i G.R. Mackay (red.). CAB International, UK: 133–154.
- [46] Peloquin S.J. 1983. Genetic engineering with meiotic mutants. W: Pollen: Biology and implications for plant breeding. D.L. Mulcaphy i E. Ottaviano (red.). Elsevier Science Publishing. Co. Inc.: 311–316.
- [47] Peloquin S.J., Hougas R.W. 1959. Decapitation and genetic markers as related to haploidy in *Solanum tuberosum*. *Eur. Potato J.* 2: 176–183.
- [48] Prokosev S.M., Mattison N.L. 1940. Biochimiceskaja charakteristika novych vidov kartofelja. *Vestnik Socialisticeskovo Rastenovodstva* 4: 61–74.
- [49] Ramanna M.S. 1983. First division restitution gamete through fertile desynaptic mutants of potato. *Euphytica* 32: 337–350.
- [50] Rasco Jr. E.T., Plaisted R.L., Ewing E.E. 1980. Photoperiod response and earliness of *Solanum tuberosum* ssp. andigena after six cycles of recurrent selection for adaptation to long days. *Amer. Potato J.* 57: 435–447.
- [51] Ross H. 1986. Potato breeding – problems and perspectives. W: Advances in plant breeding. Suppl. 13 to J. Plant Breed.: 132 ss.
- [52] Ross R.W., Dionne L.A., Hougas R.W. 1967. Doubling the chromosome number of selected *Solanum* genotypes. *Eur. Potato J.* 10: 37–52.
- [53] Rowe P.R. 1974. Methods of producing haploids: parthenogenesis following interspecific hybridization. W: Haploids in higher plants. K.J. Kasha (ed.), Univ. of Guelph: 43–52.
- [54] Ruttencutter G., Haynes F.L., Moll R.H. 1979. Estimation of narrow sense heritability for specific gravity in diploid potatoes *Solanum tuberosum* subsp. *phureja* and *stenotomum*. *Amer. Potato J.* 56: 447–453.

- [55] Sawicka E.J. 1976. Charakterystyka serii *Commersoniana* Buk. i gatunku *Solanum verrucosum* Schlecht. z punktu widzenia przydatności tych form dla hodowli ziemniaka. Praca doktorska. Instytut Ziemniaka: 50 ss.
- [56] Schäfer-Pregl R., Ritter E., Concilio L., Hesselbach J., Lovatti L., Walkemeier B., Thelen H., Salamini F., Gebhardt C. 1998. Analysis of quantitative trait loci (QTLs) and quantitative trait alleles (QTAs) for potato tuber yield and starch content. *Theor. Appl. Genet.* 97: 834–846.
- [57] Simmonds N.W. 1963. Abbreviation of potato names. *Eur. Potato J.* 6(3): 186–190.
- [58] Sinden S.L., Goth R.W., O'Brien M.J. 1973. Effect of potato glycoalkaloids on the growth of *A. solani* and their possible role as resistance factors in potatoes. *Phytopathology* 63: 303–307.
- [59] Soest L.J.M. van 1983. Evaluation and distribution of important properties in the German-Netherlands potato collection. *Potato Res.* 26: 109–21.
- [60] Spooner D.M., Hijmans R.J. 2001. Potato systematics and germplasm collecting, 1989–2000. *Amer. J. of Potato Res.* 78: 237–268.
- [61] Strzelczyk-Żyta D., Marczewski W. 2000. Identyfikacja markerów molekularnych genów odporności ziemniaka na wirus M ziemniaka (PVM). IX ogólnopolska konf. kultur in vitro i biotechnologii roślin: Modyfikacje genomu roślin. 10–13 września 2000, Gdańsk: 60.
- [62] Szczerbakowa A., Maciejewska U., Wielgat B., Gawroński M., Kryszczuk A., Zimnoch-Guzowska E. 2000. Somatic hybrids between hexaploid *Solanum nigrum* and diploid potato hybrid and their resistance to *Phytophthora infestans*. W: Breeding research for resistance to pathogens and for quality traits. EAPR/EUCARPIA section meeting. Warsaw, Poland, July 3–7, 2000: 41 (abstr.).
- [63] Świeżyński K.M., Osiecka M., Sieczka M.T., Zarzycka H., Zimnoch-Guzowska E. 1994. Problematyka hodowli odmian ziemniaka odpornych na grzyb *Phytophthora infestans*. *Biul. Inst. Ziemn.* 44: 13–20.
- [64] Świeżyński K.M., Zimnoch-Guzowska E. 1996. Development of parental lines for Polish potato breeding. *J. Appl. Gen.* 37A: 15–23.
- [65] Tai G.C.C. 1994. Use of $2n$ gametes. W: Potato genetics. J.E Bradshaw i G.R. Mackay (eds). CAB International, UK:109–132.
- [66] Tiemann H., Schreiter J. 1976. Zur Bluhintensitat und Blütenbiologie bei Dihaploiden von *Solanum tuberosum* L. *Biol. Zbl.* 95: 579–588.
- [67] Wastie R.L., Rousselle P., Waugh R. 1994. A review of techniques for acquiring pest and disease resistance in potatoes. Proc. 12th trien. conf. EAPR, Paris, 18–23 Julliet 1993, INRA-France: 57–74.
- [68] Wenzel G., Schieder O., Przewoźny T., Sopory S.K., Melchers G. 1979. Comparison of single cell culture derived *Solanum tuberosum* L. plants and a model for their application in breeding programs. *Theor. Appl. Genet.* 55: 49–55.
- [69] Woodward L., Jackson M.T. 1985. The lack of enzymatic browning in wild potato species, Series Longipedicellata, and their crossability with *S. tuberosum*. *Z. Pflanzenzücht.* 94: 278–287.
- [70] Zimnoch-Guzowska E. 1987. Potato diploids with high starch content. EAPR Abstracts of Conf. Papers and Posters. Aalborg, Denmark, 26–31 July 1987: 420.
- [71] Zimnoch-Guzowska E. 1991. Synteza ziemniaków diploidalnych o wysokiej zawartości skrobi. W: Synteza materiałów wyjściowych dla hodowli ziemniaka – dorobek i perspektywa. Inst. Ziemn. Bonin: 140–143.
- [72] Zimnoch-Guzowska E. 2001. Hodowla ziemniaka w Polsce – stan obecny, osiągnięcia i perspektywy. W: Mat. z Ogólnopolskiego Forum Producentów, Dystrybutorów i Przetwórców Ziemniaka, Jadwisin-Brwinów, 7–8 marca 2001, Jadwisin 2001: 17–23.

- [73] Zimnoch-Guzowska E., Dziewońska M.A. 1989. Breeding of potatoes at the diploid level. W: EAPR Breeding and EUCARPIA Potato Section conf.: Parental line breeding and selection in potato breeding, 11–16 December 1988. Intern. Agric. Centre Wageningen. Pudoc Wageningen: 163–171.
- [74] Zimnoch-Guzowska E., Sieczka M.T., Jakuczun H. 1997. Program syntezy materiałów wyjściowych dla krajowej hodowli ziemniaka. *Biul. Inst. Ziemn.* 48/I: 19–26.
- [75] Zimnoch-Guzowska E., Lebecka R., Sobkowiak S. 1999. An attempt to evaluate potato resistance to *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica* by inoculation of detached leaves. *Plant Breed. Seed Sci.* 43(1): 101–112.
- [76] Zimnoch-Guzowska E., Lebecka R., Pietrak J. 1999. Soft rot and blackleg reactions in diploid potato hybrids inoculated with *Erwinia* spp. *Amer. J. Potato Res.* 76: 199–207.
- [77] Zimnoch-Guzowska E., Marczewski W., Lebecka R., Flis B., Schafer-Pregl R., Salamini F., Gebhardt C. 2000. QTL analysis of new sources of resistance to *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica* in potato done by AFLP, RFLP and resistance-gene-like markers. *Crop Sci.* 40: 1156–1167.

Application of diploid potato forms in breeding and genetic studies

Key words: potato, diploids, *Solanum tuberosum* L., breeding research

Summary

Cultivated potato, *Solanum tuberosum* L., is a tetraploid species ($4x = 2n = 48$). Majority of wild potato species, known as a source of genetic variation desired in breeding, are diploid ($2x = 2n = 24$). Expanded studies on utilization of diploid potato in breeding and research started in the 60-ties.

This review article presented advantages and disadvantages of utilizing diploid potatoes in potato breeding and genetic studies. After describing major models of analytical breeding the detailed program was given concerning recombination breeding at the diploid level performed at Młochów Research Center, Plant Breeding and Acclimatization Institute (IHAR).

Genetic studies conducted on diploid potatoes are related to inheritance of chosen characters, somatic hybridization, mapping the potato genome and marker assisted selection. Examples given came from the research carried out at Młochów Research Center, IHAR.