



**Zakład Hodowli i Biotechnologii
Roślin**

Innowacyjne rozwiązania w hodowli tytoniu w celu poprawy zdrowia roślin i ich składu chemicznego

Materiały przygotowane w ramach zadania 6.3
Dotacji celowej MRiRW na rok 2022

Narzędzia wykorzystywane w pracach hodowlanych tytoniu

Krzyżowanie międzyodmianowe

Krzyżowanie międzygatunkowe

Indukcja podwojonych haploidów

Transformacja genetyczna roślin

Hodowla mutacyjna

Transkrypcyjne wyciszanie genów

Edytowanie genomu

Potranskrypcyjne wyciszanie genów

Odmiana podatna na *Th. basicola*



N. tabacum
odm. Wiślica

X

Odmiana odporna na *Th. basicola*



autor: Apoloniusz Berbec

N. tabacum
odm. AC Gayed



autor: Apoloniusz Berbec

- ✓ odporność na czarną zgniliznę korzeni, wirusa Y ziemniaka
- ✓ podwyższona odporność na mączniak rzekomy
- ✓ cytoplazmatyczna męskosterylność
- ✓ odmiany polecane na gleby klasy od III do V
- ✓ odmiany średnio i wysoko plonujące

Odmiany odporne na czarną zgniliznę korzeni: VRG 1, VRG 2, VRG 4, Wentura, HTR2, HTR3 (2008-2011)

Krzyżowanie międzyodmianowe oraz selekcja osobników odpornych

Ocena odporności roślin

✓ **biologiczne testy odpornościowe na TSWV**

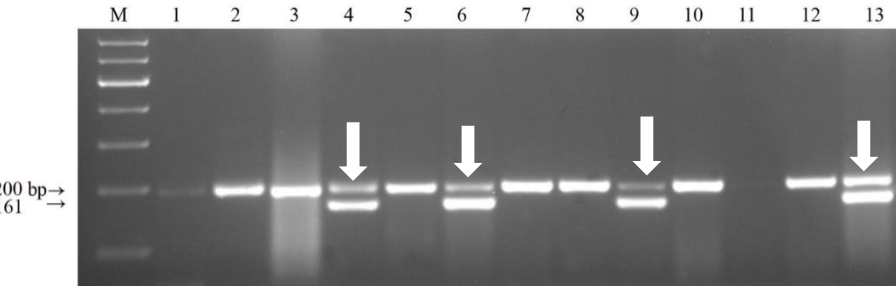


odporna

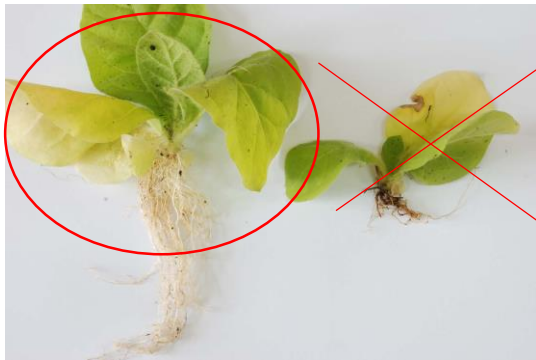


podatna

✓ **molekularna identyfikacja roślin odpornych na TSWV**



✓ **biologiczne testy odpornościowe na *Th. basicola***



odporna



podatna



Linia odporna na wirusa brązowej plamistości pomidora na tytoniu (TSWV)

linia WGL-PW



Odmiana podatna na TSWV

odm. WAC 121 D7

X

Mieszaniec F1,
pokolenie BC1, BC2



Krzyżowanie międzyodmianowe



Uzyskane w wyniku hodowli międzyodmianowej linie wykazujące odporność na TSWV

2015-2019

- **Poprawa cech użytkowych linii hodowlanych wykazujących odporność na TSWV**
- **Ograniczenie nasilenia deformacji morfologicznych roślin odpornych na TSWV**

Krzyżowanie międzyodmianowe



Odmiana odporna
na mozaikę
tytoniową (TMV)

***N. tabacum* odm. TN 90**



Odmiana
podatna
na TMV

***N. tabacum* odm. Wiślica**

X

***N. tabacum* odmiana VRG 11 i VRG 12**

Krzyżowanie międzyodmianowe

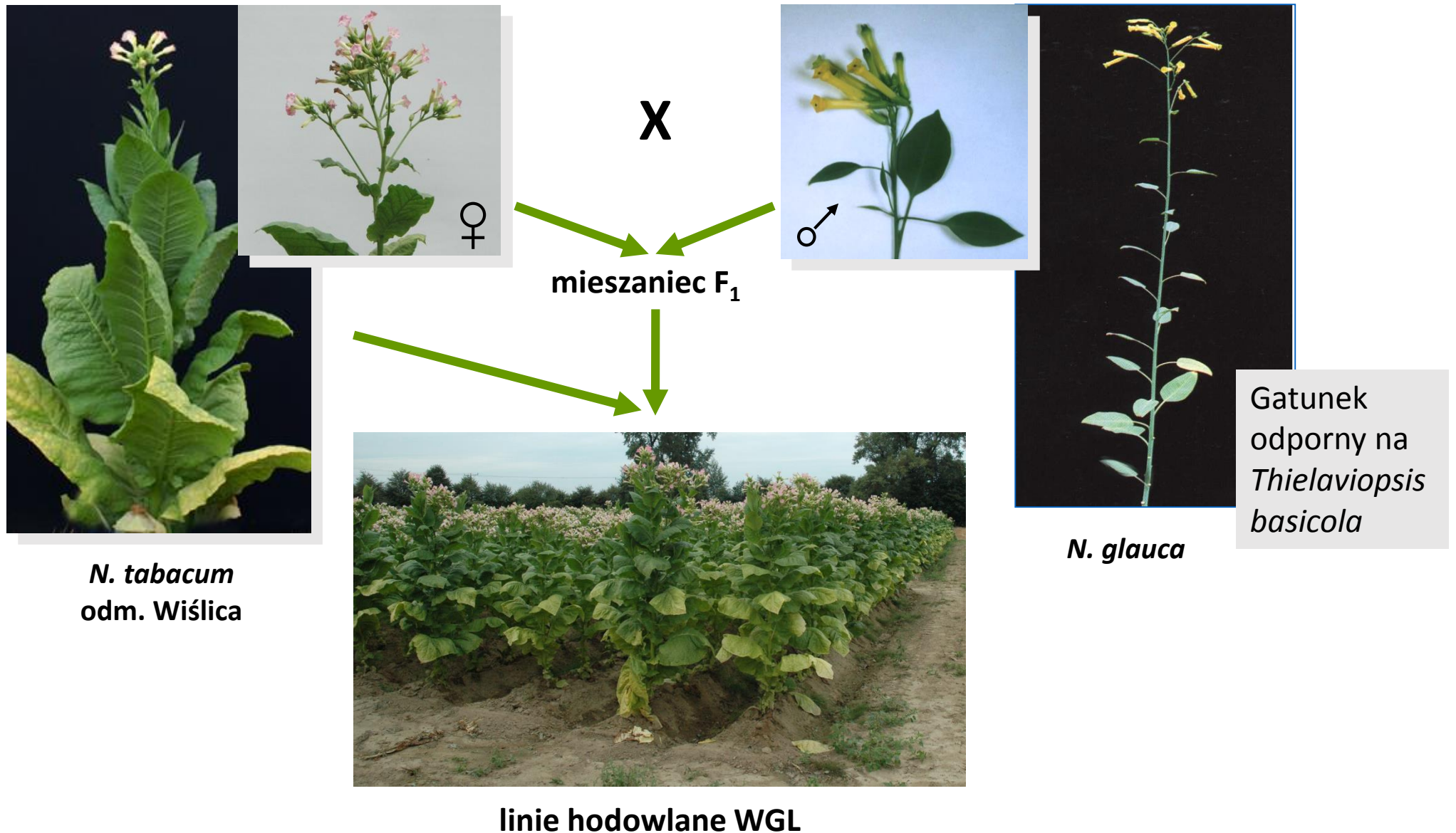


***N. tabacum* odm. VRG 12**

Cechy charakterystyczne odmiany

- odporność na czarną zgniliznę korzeni, mozaikę tytoniową i brunatnienie nerwów liści tytoniu
- forma cytoplazmatycznie męskosterylna
- polecana do uprawy na stanowiskach gdzie występuje silna presja mozaiki tytoniowej
- zgłoszona do COBORU w 2021 roku

Krzyżowanie międzygatunkowe



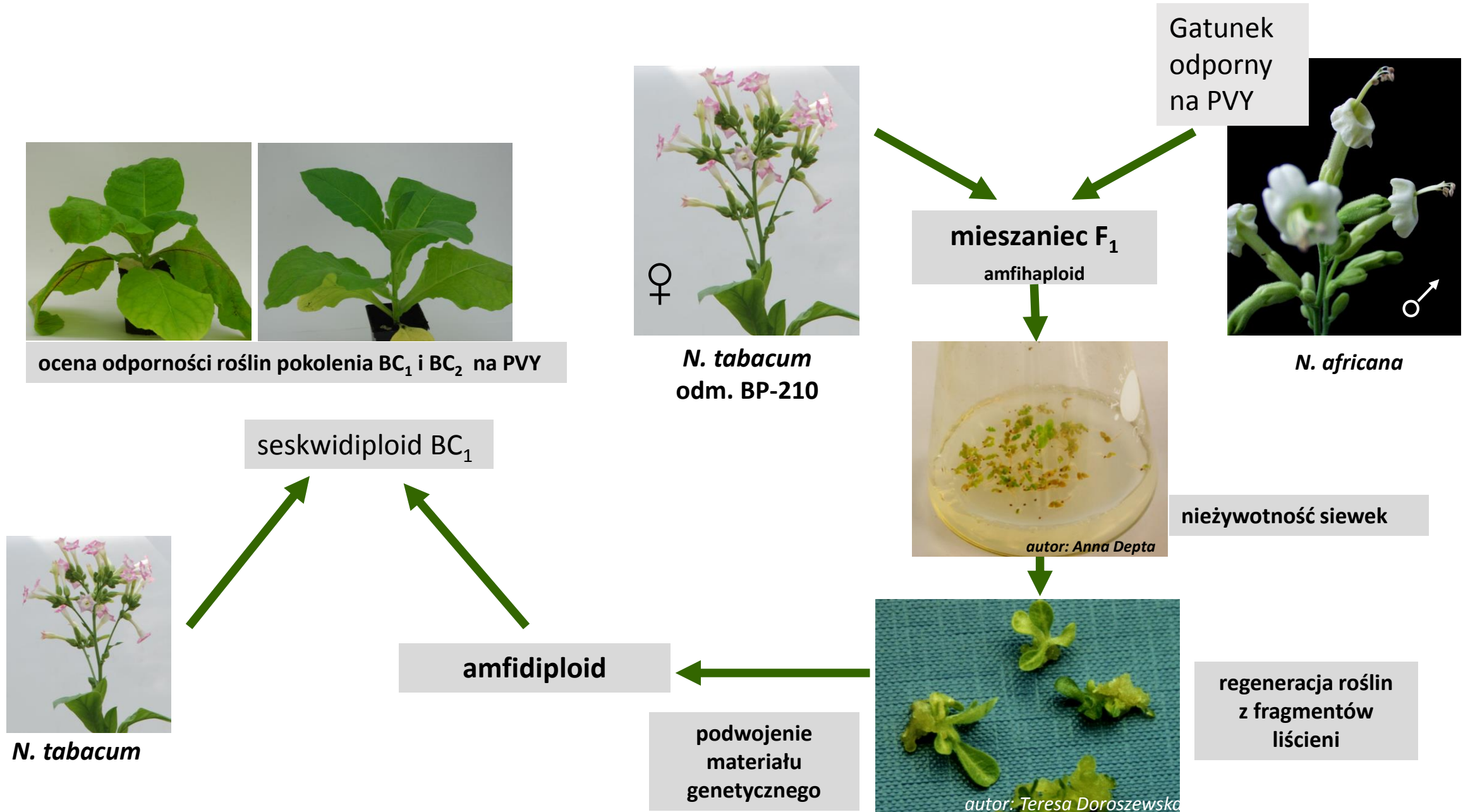
Krzyżowanie międzygatunkowe



Odmiana WIGOLA

Cechy charakterystyczne odmiany

- samobezpłodna, mieszańcowa odmiana typu Virginia,
- odporna na czarną zgniliznę korzeni i PVY, średnio podatna na mączniaka rzekomego i zgniliznę podstawy łodyg
- zaliczana do odmian wysoko plonujących
- wykazująca zdolność adaptacji do niekorzystnych warunków glebowo-klimatycznych
- Zgłoszona do COBORU w 2012 roku



Indukcja podwojonych haploidów tytoniu

2009-2012 Łączenie odporności na brązową plamistość pomidora na tytoniu (TSWV) i czarną zgniliznę korzeni *Thielaviopsis basicola*



Linia podatna na TSWV

Linia WGL

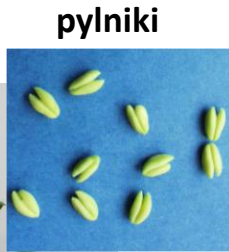


Linia odporna na TSWV

Linia PW



mieszaniec F₁



pylniki



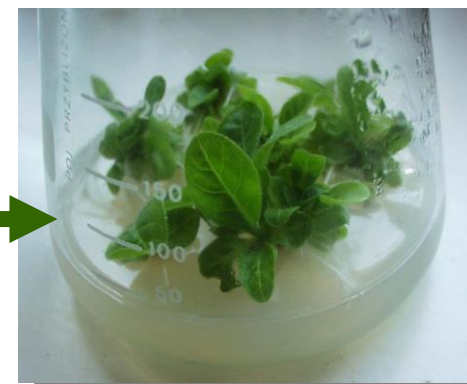
haploidy kielkujące z komórek macierzystych pyłku



haploid



fragment rdzenia łodygi



regeneracja podwojonych haploidów *in vitro*

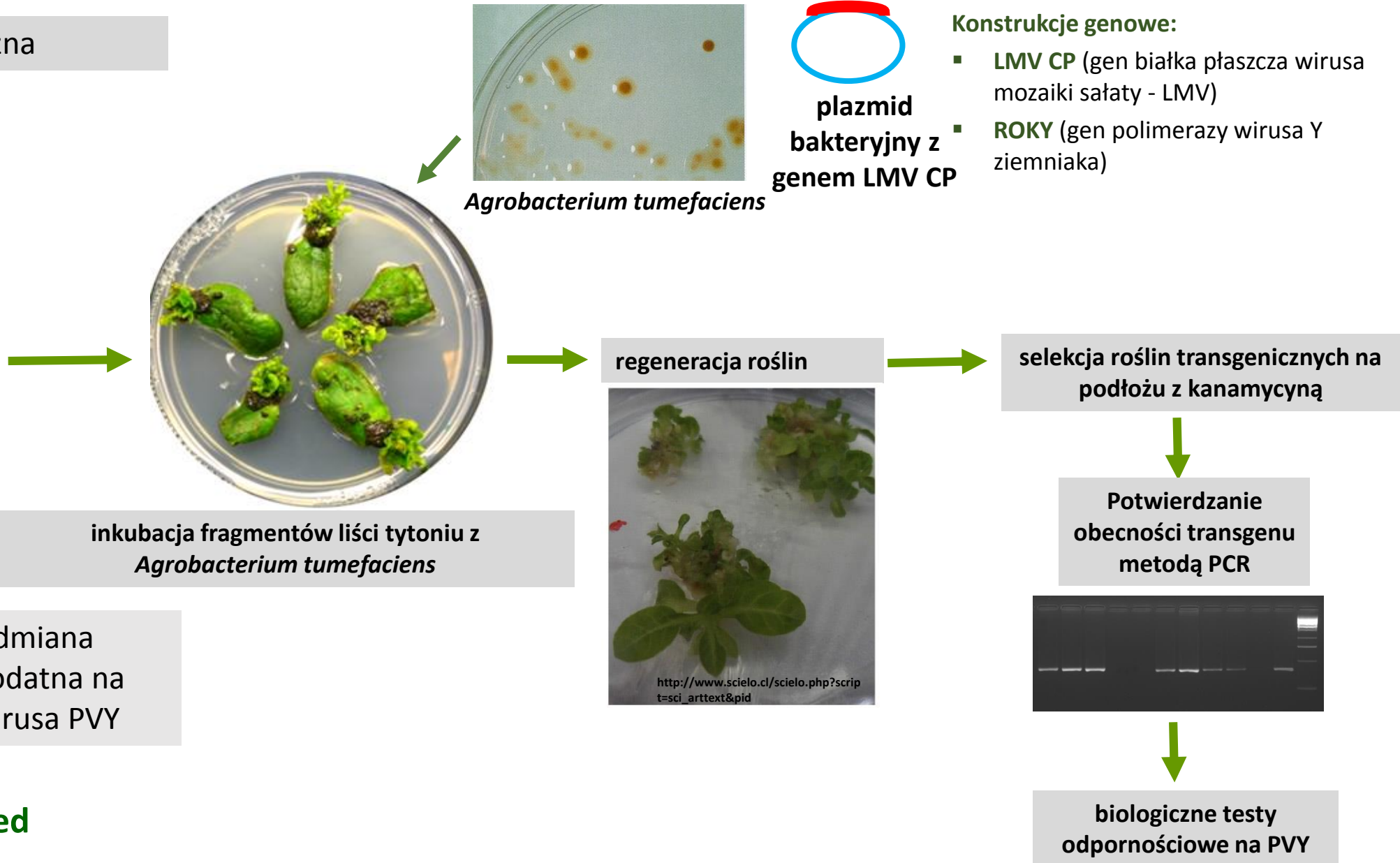
Transformacja genetyczna roślin

Transformacja genetyczna



Odmiana podatna na wirusa PVY

Odmiany: MN 944,
BY 103, K 326, AC Gayed





kontrola



LMV CP



ROKY1



ROKY2

2004
Linie hodowlane zawierające
obce konstrukcje genowe (LMV
CP i ROKY) i wykazujące
odporność na PVY

Strategia redukcji zawartości nikotyny w tytoniu z wykorzystaniem prac hodowlanych i badań genetycznych

Klasyczna hodowla

- odpowiedni dobór form rodzicielskich do krzyżowania (tj. < 3% konwersji nikotyny do nornikotyny w formach rodzicielskich) oraz selekcja osobników wykazujących niską zawartość niepożądanych alkaloidów
- geny z rodziny CYP 450 regulujące konwersję nikotyny, znajdują się w niestabilnym locus w genomie sprzyjającym ich przemieszczaniu się co sprzyja pojawianiu się osobników przekształcających nikotynę w nornikotynę

Hodowla mutacyjna

- generowanie trwałych zmian w materiale genetycznym z wykorzystaniem czynników chemicznych (np: EMS) lub fizycznych
- zmiany w genach warunkujących produkcję enzymów zaangażowanych w szlak biosyntezy nikotyny i konwersji nikotyny do nornikotyny
- krzyżowanie linii zawierających mutacje pojedyncze w celu uzyskania kombinacji mutacji w jednym osobniku
- uzyskane w wyniku mutacji zmiany genetyczne są powszechnie akceptowane przez społeczeństwo

Transkrypcyjne wyciszenie genów

- wprowadzenie do komórkowego DNA konstruktów (trans genów), których ekspresja (RNA) powoduje metylację DNA w tym genów endogennych kodujących enzymy zaangażowane w metabolizm alkaloidów

Strategia redukcji zawartości nikotyny w tytoniu z wykorzystaniem prac hodowlanych i badań genetycznych

Potranskrypcyjne wyciszenie genów

- wprowadzenie małych, syntetycznych interferujących fragmentów RNA (siRNA) homologicznych do produktów genów endogennych co powoduje degradację (mRNA) i wyciszenie ekspresji genu np.: zahamowanie ekspresji genów warunkujących kondensację pierścienia pirolidyny i pirydyny zachodzącą podczas finalnego etapu biosyntezy nikotyny

Edytowanie genomu

- narzędzie biologii molekularnej CRISPR-Cas (ang. clustered regularly interspaced short palindromic repeats - Cas)
- precyzyjne wprowadzanie zmian genetycznych w DNA komórkowym, bez wprowadzania obcych genów
- zmiany sekwencji nukleotydów DNA wybranego genu przy pomocy kompleksu naprowadzającego RNA i enzymu Cas9

