

Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin  
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy  
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy  
e-mail: anngol@iung.pulawy.pl

ANNA TROJAK-GOLUCH, APOLONIUSZ BERBEĆ,  
TERESA DOROSZEWSKA

**Wykorzystanie gatunków z rodzaju *Nicotiana*  
w najnowszej krajowej hodowli odpornościowej tytoniu.  
Praca przeglądowa**

---

The use of *Nicotiana* species in the latest domestic tobacco breeding. A review

**Streszczenie.** Dzikie gatunki *Nicotiana* są źródłem odporności na wiele chorób i szkodników tytoniu. Dawcą genetycznej odporności na wirusa Y ziemniaka (PVY) jest gatunek *N. africana*. Krzyżowanie oddalone *N. tabacum* × *N. africana*, regeneracja *in vitro* mieszańców F<sub>1</sub>, analiza cytologiczna kolejnych pokoleń mieszańcowych i biologiczne testy odpornościowe pozwoliły na uzyskanie linii hodowlanych BPA, tolerancyjnych na wszystkie izolaty PVY. Źródłem odporności na *Tomato spotted wilt virus* jest *N. alata*. Przeniesie genu *RTSW-al* z *N. alata* do genomu tytoniu prowadzono metodą krzyżowania, androgenezy i selekcji genotypów odpornych z wykorzystaniem markerów SCAR. Prace te umożliwiły uzyskanie linii odpornych na TSWV. Badania z wykorzystaniem *N. debneyi* doprowadziły do uzyskania cytoplazmatycznie męskosterylnych odmian VRG1, VRG2, VRG4, HTR2, HTR3, odpornych na czarną zgniliznę korzeni. Wykorzystując ten typ odporności, wykreowano następnie pierwsze na świecie trójliniowe mieszańce VRG5TL, VRG10TL odporne na *Thielaviopsis basicola*. Ponadto dokonano przeniesienia odporności na czarną zgniliznę korzeni z *N. glauca* do odmiany Wiślica oraz uzyskano odporną odmianę Wigola.

**Słowa kluczowe:** *N. tabacum*, odporność, PVY, TSWV, *Th. basicola*

GATUNKI Z RODZAJU *NICOTIANA* ŹRÓDŁEM ODPORNOŚCI  
NA WAŻNE GOSPODARCZO CHOROBY TYTONIU

Liczący ponad siedemdziesiąt gatunków rodzaj *Nicotiana* jest jednym z największych w rodzinie *Solanaceae*. Większość gatunków tego rodzaju występuje w stanie naturalnym w Ameryce Południowej i Północnej, Australii i jeden w Afryce. Poszcze-

gólne gatunki różnią się pod względem liczby chromosomów, właściwości morfologicznych, biologicznych, jak również odporności na choroby i szkodniki [Doroszevska i in. 2009]. Przedstawicielem rodzaju *Nicotiana* jest tytoń uprawny (*Nicotiana tabacum*), stanowiący jedną z ważniejszych roślin przemysłowych. Gatunki *Nicotiana* są wykorzystywane w wielu programach hodowlanych do otrzymywania nowych odmian tytoniu. Są przede wszystkim źródłem genetycznej odporności na choroby i szkodniki. Spośród wielu gatunków posiadających czynniki odporności, w badaniach prezentowanych w opracowaniu uwzględniono głównie te, które były wykorzystane w hodowli odpornościowej prowadzonej ostatnio w Instytucie Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowym Instytucie Badawczym.

Głównym źródłem genetycznej odporności na PVY są dzikie gatunki: *N. benavidesii*, *N. raimondii*, *N. glauca*, *N. noctiflora* i *N. africana* [Doroszevska i Depta 2011]. W wyniku prac prowadzonych nad przeniesieniem odporności od *N. benavidesii* uzyskano częściowo płodne formy seskwidiploidalne, będące komponentem maticznym w krzyżowaniach wstecznych z tytoniem, a następnie poprzez samozapłodnienie w kolejnych pokoleniach uzyskano formy odporne [Berbeć i Głazewska 1988]. Innym gatunkiem będącym przedmiotem badań był *N. raimondii* [Berbeć 1988]. Trudności z przeniesieniem odporności na PVY wynikały z niestabilności cytogenetycznej płodnej formy mieszańcowej i zróżnicowanej odporności. Gatunkiem o wysokiej odporności na różne szczepy PVY jest *N. africana* [Lucas i in. 1980, Doroszevska 2004]. Badania nad wykorzystaniem tego gatunku prowadził Wernsman [1992], który uzyskał 50-chromosomową linię addycyjną, wykazującą tolerancję wobec PVY. Próby przeniesienia czynnika odporności zlokalizowanego na dodatkowym chromosomie od *N. africana* podejmował Lewis [2005]. Uzyskane przez niego linie prawie izogeniczne wykazywały podwyższoną odporność na niektóre izolaty PVY [Lewis 2007]. Prace związane z przeniesieniem odporności na PVY od *N. africana* realizowane były w IUNG – PIB w Puławach [Doroszevska 2009]. Odpornością na brązową plamistość pomidora powodowaną przez *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) w całym rodzaju *Nicotiana* charakteryzuje się jedynie *N. alata* Link et Otto, lecz wykorzystanie tego gatunku w hodowli jest trudne ze względu na problemy występujące przy uzyskaniu płodnych form mieszańcowych, jak również sprzężenie czynnika odporności z występowaniem deformacji morfologicznych roślin [Jankowski 1980, Laskowska i Berbeć 2006]. Ważnym gatunkiem w hodowli odpornościowej tytoniu jest *N. debneyi*, wykazujący odporność na mączniaka rzekomego, którego sprawcą jest *Peronospora tabacina*, oraz na czarną zgniliznę korzeni, powodowaną przez patogen glebowy *Thielaviopsis basicola*. Innym gatunkiem niosącym czynniki odporności na *Th. basicola* jest dość szeroko rozpowszechniony na świecie *N. glauca*. Jego odporność na *Th. basicola* została wielokrotnie potwierdzona w badaniach [Głazewska i in. 1994, Doroszevska i Przybyś 2007]. Głazewska podaje, że jest ona warunkowana przez jeden bądź kilka genów dominujących. Dodatkowo stwierdzono, że bariery izolacji genetycznej między tytoniem uprawnym a *N. glauca* mogą być pokonane, a możliwości wymiany genetycznej między nimi są znaczne [Shilagyi 1975, Berbeć i Opoka 1971]. Odporność na *Th. basicola* została pomyślnie przeniesiona do kilku odmian uprawnych tytoniu [Berbeć 2007, Trojak-Goluch 2014].

## HODOWLA ODPORNOŚCIOWA TYTONIU NA WIRUSA Y ZIEMNIAKA

Ważnym problemem w uprawie tytoniu jest brunatna nekroza nerwów wywoływana przez wirusa Y ziemniaka (*Potato virus Y*, PVY). Choroba hamuje transport wody i soli mineralnych w roślinie, zmniejsza zdolności asymilacyjne liści, przyczyniając się do drastycznego spadku plonu i jego jakości [Doroszevska i Berbec 2015]. Mimo dostępności na rynku krajowych i zagranicznych odmian, z genami  $va^0$ ,  $va^1$ ,  $va^2$  czy VR warunkującymi odporność na nekrotyczne szczepy PVY<sup>N</sup>, problem występowania wirusa i strat przez niego powodowanych jest wciąż aktualny [Lacroix i in. 2010]. Obserwuje się bowiem coraz częstsze pojawianie izolatów, zwłaszcza z grupy PVY<sup>NTN</sup>, przełamujących dostępne źródła odporności [Doroszevska 2009]. W IUNG – PIB w Puławach do prac hodowlanych włączono gatunek *N. africana*, wykazujący odporność na dotychczas znane szczepy PVY; w tym izolaty krajowe i zagraniczne, pochodzące z tytoniu i z ziemniaka [Doroszevska 2004]. W wyniku krzyżowania podatnej na PVY odmiany tytoniu BP-210 z *N. africana* uzyskano nieżywotne mieszańce F<sub>1</sub>. Przyczyną nieżywotności mieszańców był niedorozwój systemu korzeniowego prowadzący do zamierania roślin w fazie siewki. Zastosowanie *in vitro* techniki regeneracji roślin z fragmentów liścieni mieszańców F<sub>1</sub> pozwoliło na przełamanie postzygotycznych barier i uzyskanie żywotnych roślin [Doroszevska 1994]. Bezpłodność amfihaploidalnego (zawierającego po jednym haploidalnym genomie) pokolenia mieszańcowego, wynikająca z niskiego stopnia koniugacji chromosomowej, stanowiła kolejną barierę w praktycznym wykorzystaniu dzikiego gatunku [Doroszevska i Berbec 1996]. Poprzez podwojenie liczby chromosomów uzyskano płodne formy amfidiploidalne (zawierające po dwa haploidalne genomy każdego z gatunków) [Doroszevska i Berbec 2000], które po krzyżowaniu wstecznym z odmianą mateczną miały charakter seskwidiploidów (*N. tabacum* cv. BP-210 × *N. africana*) × *N. tabacum* cv. BP-210. Dalsze krzyżowanie wsteczne z formą uprawną i uzyskanie pokolenia BC<sub>2</sub>, a następnie kolejnych pokoleń w wyniku samozapylenia pozwoliło na uzyskanie w pokoleniu BC<sub>2</sub>F<sub>4</sub> stabilnej, 48-chromosomowej linii hodowlanej. Badania odpornościowe na PVY wcześniejszych pokoleń prowadzono metodą inokulacji, natomiast stabilne cytologicznie pokolenia oceniano w warunkach naturalnej infekcji polowej. Analiza cytologiczna oraz selekcja na podstawie badań odpornościowych i testów ELISA pokoleń BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>, BC<sub>2</sub>F<sub>7</sub> pozwoliła na uzyskanie stabilnych linii hodowlanych. Potomstwo tych linii, określone jako BPA, poddano inokulacji z wykorzystaniem najbardziej zjadliwych izolatów, zdolnych do przełamania dostępnych źródeł odporności. Nie obserwowano typowej dla infekcji spowodowanej przez PVY nekrozy nerwów [Doroszevska 2009]. Jak ustaliła Korbecka i in. [2017], tolerancja typu *africana* jest warunkowana pojedynczym genem recesywnym odmiennym od alleli genu *va*. Uzyskane linie w kontakcie z wirusem wykazują wyłącznie chlorotyczne plamy i przejaśnienia nerwów liści pomimo obecności wirusa w tkankach. Dalsze prace hodowlane zmierzały w kierunku poprawy cech jakościowych. W wyniku krzyżowania linii BPA z odmianą o dobrych cechach jakościowych wyselekcjonowano linię hodowlaną o lepszych cechach plonotwórczych i jakościowych (WABPA3). Linia ta stanowi też dobry komponent mieszańców F<sub>1</sub>.

## HODOWLA ODPORNOŚCIOWA NA BRĄZOWĄ PLAMISTOŚĆ POMIDORA NA TYTONIU

Kolejną chorobą wirusową mającą duże znaczenie gospodarcze jest brązowa plamistość pomidora powodowana przez *Tomato spotted wilt virus* (TSWV). Wirus brązowej plamistości pomidora jest jednym z najbardziej patogennych i agresywnych wirusów roślinnych. Jest to patogen o bardzo szerokim zasięgu geograficznym, który atakuje ponad 900 gatunków roślin, należących do 85 rodzin botanicznych [Parrella i in. 2003]. Występuje przede wszystkim na pomidorze, papryce, grochu, sałacie, a z upraw rolniczych atakuje głównie tytoń. W Polsce TSWV jest sprawcą jednej z najbardziej niszczących chorób tytoniu, która objawia się chlorozą i nekrozą liści oraz karłowaceniem roślin. Źródła odporności na TSWV w świecie roślinnym są bardzo rzadkie. U papryki gen odporności, nazwany *Tsw*, został wprowadzony z *Capsicum chinense* do *Capsicum annuum* [Boiteux i de Avilla 1994], natomiast u pomidora odporność warunkowaną genem *Sw-5* przeniesiono z *Lycopersicon peruvianum* do *Lycopersicon esculentum* [Stevens i in. 1992]. W rodzaju *Nicotiana* jedynie *N. alata* Link et Otto charakteryzuje się odpornością na TSWV [Jankowski 1980]. Wykorzystanie tego gatunku w hodowli jest trudne z powodu sprzężenia czynnika odporności z występowaniem deformacji morfologicznych roślin [Laskowska i Berbeć 2006]. W Polsce w latach 90. wyhodowano odmianę typu papierosowego ciemnego Polalta z odpornością pochodzącą od *N. alata* [Gajos 1988]. Ta odmiana nie jest uprawiana ze względu na niekorzystne cechy użytkowe. Ponadto w jej potomstwie, uzyskanym ze skrzyżowania z innymi odmianami tytoniu, występowało nieregularne unerwienie liści, guzy, deformacje liści i kwiatostanu, spowodowane oddziaływaniem materiału genetycznego, pochodzącego od *N. alata* [Kennedy i Nielsen 1993, Moon i Nicolson 2007, Laskowska i Berbeć 2010]. Próby wykorzystania odmiany Polalta w hodowli tytoniu były prowadzone m.in. przez Moon i Nicolson [2007]. Autorzy opracowali markery AFLP, a następnie SCAR w celu wytypowania spośród mieszańców  $F_1$ ,  $F_2$  oraz  $BC_1$ – $BC_3$  *N. tabacum* cv. K 326 × cv. Polalta roślin odpornych o normalnym fenotypie. Eksperymenty zakończyły się jednak niepowodzeniem. Od 2004 r. w IUNG – PIB w Puławach trwają prace nad wykorzystaniem Polalty i włączeniem genów odporności do tytoniu typu Virginia. Podjęto próby uzyskania linii odpornych na TSWV i wolnych od deformacji morfologicznych poprzez tworzenie form homozygotycznych w wyniku androgenyzy z mieszańców  $F_1$  *N. tabacum* cv. Wiślica × Polalta. W wyniku prac ustalono, że odporność Polalty typu nadwrażliwości (HR) jest warunkowana pojedynczym genem dominującym *RSTV-al*. Ponadto wyselekcjonowano podwojone haploidy PW-833, PW-834, PW-900, wykazujące pełną odporność na TSWV i ograniczoną liczbę deformacji [Laskowska i Berbeć 2010]. Ich niekorzystną cechą było jednak duże podobieństwo do typu papierosowego ciemnego. Krzyżowanie podwojonych haploidów PW z linią hodowlaną WGL, a następnie zastosowanie androgenyzy, jak również selekcji genotypów odpornych z wykorzystaniem markerów SCAR ACT/CTA268 [Moon i Nicolson 2007] pozwoliło na uzyskanie homozygot w typie Virginia, odpornych na TSWV, o znikomym stopniu deformacji morfologicznych [Trojak-Goluch i in. 2016]. Wyniki prezentowanych prac wskazują na możliwość rekombinacji pomiędzy fragmentem DNA pochodzącym od *N. alata* a genomem tytoniu uprawnego i na szansę przełamania efektu sprzężenia pomiędzy genem odporności *RSTV-al* a genami odpowiedzialnymi za ujawnianie deformacji morfologicznych. Trwają badania molekularne zmierzające do weryfikacji tej hipotezy, jak również selekcja fenotypów odpowiadających wymogom praktyki rolniczej.

## HODOWLA ODPORNOŚCIOWA TYTONIU NA CZARNĄ ZGNILIZNĘ KORZENI

W latach 1995–2005 jedną z ważniejszych chorób tytoniu w Polsce była czarna zgnilizna korzeni, wywoływana przez grzybowy patogen glebowy *Thielaviopsis basicola* (Berk. & Broome syn. *Chalara elegans* (Nag Raj & Kendrick). Choroba ta występowała na roślinach w rozsadniku, jak również w warunkach polowych. W efekcie jej występowania obserwowano gnicie włośników i młodszych korzeni, a następnie całego systemu korzeniowego. Przyczyniało się to do zahamowania wzrostu roślin, żółknięcia i więdnienia liści mimo odpowiedniego nawożenia i zaopatrzenia w wodę. Straty w plonach liści spowodowane infekcją tytoniu przez *Th. basicola* sięgały niekiedy powyżej 50% [Trojak-Goluch 2008]. W tej sytuacji istotnym źródłem odporności okazał się dziki gatunek *N. debneyi*, którego pełna odporność na różne rasy *Th. basicola*, warunkowana pojedynczym dominującym genem została wykorzystana i wprowadzona do odmian typu Virginia za pośrednictwem kanadyjskiej odmiany AC Gayed [Brandle 1997, Berbeć 2007]. W efekcie prac hodowlanych prowadzonych w IUNG – PIB w latach 1996–2011 uzyskano i wpisano do *Księgi ochrony wyłącznego prawa* szereg odpornych odmian VRG 1, VRG 2, VRG 4, HTR2, HTR3, które zarówno pod względem cech morfologicznych jak i chemicznych były zbliżone do podatnej odmiany matecznej Wiślica [Berbeć 2006, Berbeć 2011]. Wyróżniały się natomiast cytoplazmatyczną męską sterylnością warunkującą niezdolność wytwarzania funkcjonalnego pyłku i samozapylenia. Właściwość ta została wprowadzona do tytoniu w celu ochrony praw własności hodowcy do odmiany, jak również w celu utrzymania wysokiej jakości materiału siewnego. Wdrożenie tych odmian do uprawy umożliwiło produkcję tytoniu i uzyskanie dobrych efektów ekonomicznych na stanowiskach, które nie nadawały się do uprawy odmian podatnych. W latach 2011–2013, wykorzystując genetyczną odporność typu *debneyi*, wykreowano w IUNG – PIB pierwszego na świecie trójliniowego mieszańca tytoniu – odmianę VRG 5TL – odporną na *Th. basicola* i w znacznym stopniu zbliżoną do amerykańskiej odmiany Virginia SCR. Jest ona efektem krzyżowania mieszańca pojedynczego AB, uzyskanego z dwóch siostrzanych linii odpornych na czarną zgniliznę korzeni, z odległą fenotypowo linią ojcowską C. Charakteryzuje się znaczną zmiennością morfologiczną wynikającą ze zróżnicowania genetycznego, ponadto dobrą treściwością liści i doskonałą jakością surowca. Kolejną polską odmianą tytoniu Virginia z genetycznie uwarunkowaną odpornością typu *debneyi* jest VRG 10TL. Ten trójliniowy mieszanec posiada niezwykle wysoki potencjał plonowania 4,5 t/ha, a ponadto charakteryzuje się bardzo dobrą jakością surowca. Genetycznie uwarunkowana odporność wymienionych odmian umożliwia produkcję tytoniu w rejonach dużej koncentracji uprawy oraz silnej presji infekcyjnej ze strony *Th. basicola*. Wdrożenie odmian odpornych na czarną zgniliznę korzeni do uprawy jest szczególnie istotne z uwagi na dużą liczbę gospodarstw z wysokim udziałem tytoniu w strukturze zasiewów. Odmiany odporne hodowli IUNG – PIB cieszą się ogromnym powodzeniem wśród plantatorów, o czym świadczy ich wysoki udział w ogólnej powierzchni uprawy tytoniu w Polsce (dane niepublikowane).

W rodzaju *Nicotiana* źródłem odporności na czarną zgniliznę korzeni jest także dość szeroko rozpowszechniony na świecie gatunek *N. glauca*. W IUNG – PIB w Puławach podjęto próbę włączenia czynnika odporności z *N. glauca* do genomu japońskiej odmiany BY 103 i amerykańskiej K 326, jak również popularnej polskiej odmiany Wiślica. Stosując klasyczną metodę hybrydyzacji międzygatunkowej otrzymano amfihaploidy,

amfidiploidy i seskwidiploidy. Analizowano cechy morfologiczne roślin oraz przebieg mikrosporogenezy mieszańców [Trojak-Goluch i Berbeć 2003, 2007]. Badania wykazały wpływ odmiany tytoniu na stopień koniugacji chromosomów oraz płodność mieszańców międzygatunkowych. Dowiodły także, że spośród badanych najlepszym środowiskiem genetycznym do introgresji genów z *N. glauca* jest odmiana Wiślica. Dalszy proces hodowlany obejmował krzyżowanie wsteczne postseskwidiploidów z tytoniem, a następnie selekcję roślin odpornych w potomstwie uzyskanym w wyniku samozapylenia. Selekcja genotypów odpornych odbywała się na podstawie szklarniowych testów biologicznych. W wyniku prac wykazano stabilne dziedziczenie i ekspresję czynnika odporności zarówno we wczesnych BC<sub>2</sub>, jak i zaawansowanych BC<sub>2</sub>F<sub>7</sub> pokoleniach mieszańcowych. W następnym etapie oceniono wpływ czynnika odporności typu *glauca* na cechy użytkowe linii hodowlanych WGL. W trzyletnim doświadczeniu polowym ścisłym nie stwierdzono istotnego wpływu czynnika odporności na wysokość roślin [Trojak-Goluch i Berbeć 2010]. Natomiast obecność odporności typu *glauca* determinowała długość trwania fazy wegetatywnej. Badane linie WGL kwitły znacznie później niż wyjściowa odmiana Wiślica. Niekorzystny wpływ czynnika odporności przejawiał się również zmniejszeniem masy blaszki liściowej linii WGL w stosunku do Wiślicy. W efekcie dalszych prac i doskonalenia typu użytkowego linii WGL w 2014 r. do wykazu odmian w *Księdze ochrony wyłącznego prawa* trafiła cytoplazmatycznie męskosterylna odmiana Wigola. Oprócz odporności na czarną zgniliznę korzeni charakteryzuje się ona zdolnością adaptacji do różnych warunków glebowo-klimatycznych, jak również wysokim potencjałem plonowania.

#### OCENA PLONU ODMIAN ODPORNICH NA CZARNĄ ZGNILIZNĘ KORZENI

Ocenę plonowania nowych odmian tytoniu odpornych na czarną zgniliznę korzeni prowadzono w ścisłych doświadczeniach polowych metodą bloków losowych, porównując z wzorcową do niedawna, szeroko rozpowszechnioną w Polsce odmianą Wiślica. Eksperymenty polowe założono w dwóch lokalizacjach charakteryzujących się odmiennymi warunkami siedliska. Doświadczenie pierwsze usytuowano w województwie lubelskim we wsi Dorbozy (lokalizacja 1), na glebie kompleksu żyniego bardzo dobrego, natomiast drugie – w województwie podlaskim, we wsi Głęboki Bród (lokalizacja 2), na glebie kompleksu żyniego słabego. Wielkość poletek wynosiła 14,03 m<sup>2</sup> oraz 25,16 m<sup>2</sup> odpowiednio w lokalizacji 1 i 2, a liczba powtórzeń 2. W czasie wegetacji przez okres 7 tygodni prowadzono sukcesywny zbiór dojrzałych liści. Zebrane liście suszono w suszarni ogniowo-rurowej, następnie określono plon z poletek oraz jakość surowca z uwzględnieniem klas wykupowych (tab. 1). Liście poddano także analizie zawartości nikotyny. W tym celu zmielony materiał roślinny ekstrahowano 2 godziny w roztworze 2M NaOH z dodatkiem buforu MTB z chinoliną. Po ekstrakcji próbki analizowano na chromatografii gazowej Agilent Technologies GC 7890A z detektorem MS 5975C. Rozdział ekstraktu prowadzono na kolumnie AT DB-17 30 m × 0,250 mm × 0,25 μm przy przepływie 1 ml/min. Uzyskane wyniki porównywano z krzywą kalibracyjną nikotyny (R = 0,999 w zakresie stężeń 0,0026–0,084 mg/ml). Do zbierania i obróbki danych GC/MS użyto oprogramowania ChemiStation Agilent. Uzyskane z doświadczeń wyniki opracowano statystycznie metodą analizy wariancji i wyznaczono najmniejszą istotną różnicę (LSD Fishera) przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

Tabela 1. Plonowanie i jakość odmian tytoniu IUNG – PIB w badaniach prowadzonych w 2015 roku w dwóch lokalizacjach

Table 1. Yield and quality of IUNG – PIB tobacco cultivars in the studies conducted in 2015 in two locations

| Odmiana<br>Cultivar | Lokalizacja 1/Location 1                          |                         |  | Lokalizacja 2/ Location 2                         |                         |   |
|---------------------|---|-------------------------|--|---|-------------------------|---|
|                     | plon liści<br>leaf yield<br>(t·ha <sup>-1</sup> ) | %<br>I–III <sup>#</sup> | zawartość<br>nikotyny/ nicotine<br>content (%) | plon liści<br>leaf yield<br>(t·ha <sup>-1</sup> ) | %<br>I–III <sup>#</sup> | zawartość nikotyny<br>nicotine content<br>(%) |
| VRG 2               | 3,03  | 98,2                    | 2,21   | 2,18  | 64,5                    | 2,21  |
| VRG 4               | 2,98  | 92,8                    | 2,41   | 1,96  | 65,2                    | 2,19  |
| VRG 5TL             | 3,29  | 95,5                    | 1,52   | 2,32  | 70,8                    | 1,47  |
| VRG 10 TL           | 3,15  | 93,8                    | 1,85   | 2,69  | 70,5                    | 1,74  |
| Wigola              | 3,04  | 97,7                    | 1,99   | 2,34  | 71,6                    | 1,95  |
| <b>Wiślica</b>      | <b>2,06</b>                                       | <b>77,6</b>             | <b>2,46</b>                                    | <b>1,96</b>                                       | <b>58,8</b>             | <b>2,35</b>                                   |
| NIR                 | 1,411   | -                       | 0,072  | 0,274   | -                       | 0,434   |

1 – wieś Dorbozy, województwo lubelskie/ Dorbozy village, Lubelskie Voivodship, 2 – wieś Głęboki Bród, województwo podlaskie/ Głęboki Bród, village Podlaskie Voivodship, # udział I–III klasy wykupowej liści w plonie/ percentage of I–III commercial grades of leaves per yield

NIR<sub>0,05</sub>/ LSD<sub>0,05</sub> – najmniejsza istotna różnica przy poziomie istotności 0,05/ less significant difference at 0.05 significance level

Nowe odmiany tytoniu odporne na czarną zgniliznę korzeni charakteryzowały się zdecydowanie wyższym plonem niż odmiana Wiślica. W lokalizacji 1 różnica w plonowaniu sięgała około 1 tony z hektara. Wyniki analizy statystycznej nie wykazały jednak istotnych różnic między odmianami. Przyczyną takiego stanu była duża zmienność w obrębie poszczególnych odmian, wynikająca najprawdopodobniej ze zróżnicowanych warunków glebowych występujących w poszczególnych powtórzeniach. Spośród badanych najlepiej plonowały trójliniowe mieszańcowe odmiany VRG 10 TL i VRG 5 TL, osiągając wyniki na poziomie 3,15–3,29 t·ha<sup>-1</sup>. Uzyskane dla tych odmian rezultaty były efektem zwiększonego w wyniku hodowli potencjału produkcyjnego, jak również ich lepszego dostosowania do warunków siedliskowych. Wyniki plonowania uzyskane w Głębokim Brodzie potwierdziły zwiększony w stosunku do Wiślicy potencjał plonowania nowych odpornych na czarną zgniliznę odmian. Na szczególną uwagę zasługują odmiany VRG 5TL, VRG 10TL (odporność typu *debneyi*) i Wigola (odporność typu *glauca*), których plon na bardzo słabej glebie przekroczył 2,3 t·ha<sup>-1</sup>. Nowe odmiany okazały się także lepsze pod względem jakości plonu. Udział najlepszych klas wykupowych w plonie w lokalizacji 1 i 2 był odpowiednio o 15,2–20,6% i 5,7–12,8% większy w porównaniu do uzyskanego z Wiślicy. Jednym z elementów kształtujących cechy jakościowe tytoniu jest zawartość alkaloidów, w tym nikotyny. Badania wykazały, że zarówno w lokalizacji 1 i 2 zawartość nikotyny w liściach nowych odmian IUNG – PIB była niższa w porównaniu z zawartością uzyskaną u odmiany wzorcowej. Zmniejszenie poziomu nikotyny obserwowano najwyraźniej w przypadku trójliniowych odmian mieszańcowych.

Dotychczasowe badania nad przeniesieniem odporności na choroby grzybowe z dzikich gatunków *Nicotiana* do tytoniu uprawnego wskazywały na niekorzystny wpływ czynnika odporności na cechy fizyczne i chemiczne tytoniu uprawnego [Nicoletti 1999]. Wyniki prezentowane przez Berbecia [2006] i Trojak-Goluch [2008] oraz dane z tabeli 1 dowodzą, że wprowadzenie odporności na czarną zgniliznę korzeni z gatunków *N. debneyi* i *N. glauca* do tytoniu uprawnego nie wpłynęło negatywnie na wysokość plonu i jego jakość. Poprzez odpowiedni dobór komponentów rodzicielskich do krzyżowania, właściwą selekcję roślin odpornych oraz wykorzystanie hodowli mieszańcowej do produkcji nowych odmian udało się dokonać rozbicia sprzężenia odporności na czarną zgniliznę korzeni i niekorzystnych cech użytkowych. Nieznaczny spadek zawartości nikotyny w nowych odmianach był prawdopodobnie wynikiem doboru do hodowli niskonikotynowych komponentów mieszańcowych.

#### PIŚMIENNICTWO

- Berbec A., 1988. Morphology, cytogenetics and resistance of amphidiploid *Nicotiana raimondii* Macbride  $\times$  *N. tabacum* L. (F<sub>1</sub> cv. Zamojska 4 cv.LB-838) to *Potato Virus Y*. Genet. Pol. 29, 41–52.
- Berbec A., 2006. Field performance of Poland's new flue-cured tobacco varieties resistant to *Chalara elegans*. CORESTA Congress, 15–20 October, Paris, AP22.
- Berbec A., 2007. Mieszańce Virginii odporne na czarną zgniliznę korzeni wyhodowane w IUNG – PIB oferowane do uprawy w roku 2008. Prz. Tyton. 4, 14–16.
- Berbec A., 2011. Agrotechnika mieszańcowych odmian tytoniu Virginia. IUNG – PIB, Puławy.
- Berbec A., Głazewska Z., 1988. Transfer of resistance to potato virus Y from *Nicotiana benavidesii* Goodspeed to *N. tabacum* L. Genet. Pol. 29, 323–333.
- Berbec A., Opoka B., 1971. Badania nad F<sub>1</sub> zwrotnych mieszańców *N. tabacum* L. var. *Virginica* Comes  $\times$  *N. glauca* Grah. Pam. Puł. 43, 5–38.
- Boiteux L.S., de Avilla A.C., 1994. Inheritance of a resistance specific to tomato spotted wilt *tospovirus* in *Capsicum chinense* 'PI 159236'. Euphytica 75, 139–142.
- Brandle J.E., Rogers W.D., Ankersmit J.C., 1997. AC Gayed flue-cured tobacco. Can. J. Plant Sci. 77, 157–158.
- Doroszevska T., 1994. Przełamywanie barier niezwyotności i bezpłodności międzygatunkowych mieszańców *Nicotiana tabacum* L.  $\times$  *Nicotiana africana* Merxm. metodą kultur tkankowych. Prace Ogródu Bot. PAN 5(6), 465–472.
- Doroszevska T., 2004. Krzyżowanie oddalone i transformacja genetyczna w uzyskiwaniu odporności tytoniu (*Nicotiana tabacum* L.) na wirusa Y ziemniaka. Monografie i Rozprawy Naukowe IUNG – PIB 9, Puławy.
- Doroszevska T., 2009. Transfer of tolerance to different *Potato virus Y* (PVY) isolates from *Nicotiana africana* Merxm. to *Nicotiana tabacum* L. Plant Breed. 129, 76–81.
- Doroszevska T., Berbec A., 1996. Chromosome pairing and microsporogenesis in interspecific F<sub>1</sub> hybrids of *Nicotiana africana* with different cultivars of *N. tabacum*. J. Genet. Breed. 50, 75–82.
- Doroszevska T., Berbec A., 2000. Cytological investigations of poliploid interspecific hybrids of *Nicotiana africana* with different cultivars of *N. tabacum*. J. Genet. Breed. 54, 77–82.
- Doroszevska T., Berbec A., 2015. Metodyka integrowanej ochrony tytoniu. IUNG – PIB, Puławy.
- Doroszevska T., Depta A., Czubacka A., 2009. Album gatunków z rodzaju *Nicotiana*. IUNG – PIB, Puławy.



- Doroszevska T., Depta A., 2011. Resistance of wild *Nicotiana* species to different PVY isolates. *Phytopathology* 59, 9–24.
- Doroszevska T., Przybyś M., 2007. Charakterystyka odporności gatunków *Nicotiana* na czarną zgniliznę korzeni *Thielaviopsis basicola* (Berk. and Broome) Ferr. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 517, 253–266.
- Gajos Z., 1988. Polalta – odmiana tytoniu odporna na wirus brązowej plamistości pomidora (TSWV) i czarną zgniliznę korzeni (*Thielaviopsis basicola* Ferr.). *Biul. CLPT* 1(4), 7–25.
- Głazewska Z., Laskowska D., Doroszevska T., 1994. Resistance of wild *Nicotiana* species and *N. tabacum*, *N. alata*, *N. tabacum*, *N. africana* hybrids to *Thielaviopsis basicola*. *Pam. Puł.* 104, 117–125.
- Jankowski F., 1980. Źródła odporności na TSWV (*Lycopersicum virus* 3) u dzikich gatunków z rodzaju *Nicotiana*. *Biul. CLPT* 1(2), 21–29.
- Kennedy B.S., Nielsen M.T., 1993. Characterization of tomato spotted wilt virus (TSWV) resistance in the tobacco cultivar “Polalta”. (Abstr.) *Phytopathology* 83, 1420.
- Korbecka-Glinka G., Czubacka A., Przybyś M., Doroszevska T., 2017. Resistance vs. tolerance to *Potato virus Y* in tobacco-comparing effectiveness using virus isolates from Central Europe. *Breed Sci.* (w druku).
- Lacroix C., Glais L., Kerlan C., Verrier J.-L., Jacquot E., 2010. Biological characterization of French *Potato virus Y* (PVY) isolates collected from PVY-susceptible or –resistant tobacco plants possessing the recessive resistance gene *va*. *Plant Pathol.* 59, 1133–1143.
- Laskowska D., Berbeć A., 2006. Resistance to *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) in *Nicotiana alata* and *N. sanderae* and in hybrids between *N. tabacum* and *N. alata*. *Plant Breed. Seed Sci.* 54, 91–100.
- Laskowska D., Berbeć A., 2010. TSWV resistance in DH lines of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) obtained from a hybrid between ‘Polalta’ and ‘Wislica’. *Plant Breeding* 129, 731–733.
- Lewis R.S., 2005. Transfer of resistance to potato virus Y (PVY) from *Nicotiana africana* to *Nicotiana tabacum*: possible influence of tissue culture on the rate of introgression. *Theor. Appl. Genet.* 110, 678–687.
- Lewis R.S., 2007. Evaluation of *Nicotiana tabacum* genotypes possessing *Nicotiana africana* derived genetic tolerance to *Potato Virus Y*. *Crop Sci.* 47, 1975–1984.
- Lucas G.B., Gooding G.V., Sasser J.N., Gerstel D.U., 1980. Reaction of *Nicotiana africana* to black shank, Granville wilt, tobacco mosaic virus and potato virus Y. *Tob. Sci.* 24, 141–142.
- Moon H., Nicolson J.S., 2007. AFLP and SCAR Markers linked to *Tomato spotted wilt virus* resistance in tobacco. *Crop Sci.* 47, 1887–1894.
- Nicoletti R., 1999. La resistenza genetica al marciume nero delle radici del tabacco. *II Tabacco* 7, 15–19.
- Parella G., Gognalons P., Gebre-Selasie K., Volvlas C., Maechoux G., 2003. An update of the host range of *Tomato Spotted Wilt Virus*. *J. Plant Pathol.* 85(4), 227–264.
- Shilagy L., 1975. Elimination of chromosomes in an allopolyploid hybrid of *Nicotiana tabacum* × *Nicotiana glauca*. *Acta Bot. (Budapest)* 21, 433–441.
- Stevens M.R., Scott S.J., Cergerich R.C., 1992. Inheritance of a gene for resistance to tomato spotted wilt virus (TSWV) from *Lycopersicon peruvianum* Mill. *Euphytica* 59, 9–17.
- Trojak-Goluch A., 2008. Aktualne i potencjalne możliwości uprawy tytoniu w warunkach występowania czarnej zgnilizny korzeni. *Studia i Raporty IUNG – PIB* 13, 63–73.
- Trojak-Goluch A., 2014. Wigola – doskonalsza wersja Wiślicy. *Prz. Tyton.* 130, 92–95.
- Trojak-Goluch A., Berbeć A., 2003. Cytological investigations of the interspecific hybrids of *Nicotiana tabacum* × *N. glauca* Grah. *J. Appl. Genet.* 44(1), 45–54.
- Trojak-Goluch A., Berbeć A., 2007. Meiosis and fertility in interspecific hybrids of *Nicotiana tabacum* L. × *N. glauca* Grah. and their derivatives. *Plant Breeding* 126(2), 201–206.

- Trojak-Goluch A., Berbeć A., 2010. Growth, development and chemical characteristics of tobacco lines carrying black root rot resistance derived from *Nicotiana glauca* (Grah.). *Plant Breed.* 130, 92–95.
- Trojak-Goluch A., Laskowska D., Kurska K., 2016. Morphological and chemical characteristics of doubled haploids of flue-cured tobacco combining resistance to *Thielaviopsis basicola* and TSWV. *Breed Sci.* 66, 293–299.
- Wernsman E.A., 1992. Source of resistance to virus diseases. *CORESTA Inf. Bull.* 3(4), 113–119.

**Summary.** Wild species of *Nicotiana* are the source of resistance to many diseases and pests of tobacco. *N. africana* is the donor of genetic resistance to *Potato virus Y*. Interspecific hybridization *N. tabacum* × *N. africana*, *in vitro* regeneration of F<sub>1</sub> hybrids, cytological analysis of subsequent hybrid generations as well as biological immunoassays allowed to obtain BPA breeding lines tolerant to all PVY isolates. *N. alata* is the source of resistance to *Tomato spotted wilt virus*. The *RTSW-al* gene transfer from *N. alata* to the tobacco genome was performed by crossing, androgenesis and selection of resistance genes using SCAR markers. These breeding works allowed to obtain lines resistant to TSWV. The studies on *N. debneyi* led to the development of cytoplasmic male sterile varieties VRG1, VRG2, VRG4, HTR2, HTR3 resistant to black root rot. Using this type of resistance three-way cross hybrids VRG5TL, VRG10TL resistant to *Thielaviopsis basicola* were obtained for the first time in the world. In addition, the transfer of resistance to black root rot from *N. glauca* to cultivar Wiślica was made and a new cultivar Wigola was produced.

**Key words:** *N. tabacum*, resistance, PVY, TSWV, *Th. basicola*

Otrzymano/ Received: 2.10.2017  
Zaakceptowano/ Accepted: 24.10.2017