

**ALEKSANDRA PIETRUSIŃSKA**

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy, Radzików, Krajowe Centrum Roślinnych Zasobów Genowych

Kierownik Tematu: dr Aleksandra Pietrusińska Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy, Radzików, Krajowe Centrum Roślinnych Zasobów Genowych 05-870 Błonie, tel. 22 7334507, e-mail: a.pietrusinska@ihar.edu.pl

*Prace zostały wykonane w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi nr HOR.hn.802.19.2018, Zadanie nr 9.*

## Efektywność piramidowania genów odporności na mączniaka prawdziwego (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*) i rdzę brunatną (*Puccinia triticina*) w pszenicy ozimej

### **Pyramiding efficiency of the genes of resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*) and brown rust (*Puccinia triticina*) in winter wheat**

**Słowa kluczowe:** geny odporności, hodowla odpornościowa, piramidowanie genów odporności, pszenica ozima, mączniak prawdziwy zbóż i traw, rdza brunatna zbóż i traw

#### TEMAT BADAWCZY 1. PIRAMIDOWANIE EFEKTYWNYCH GENÓW ODPORNOŚCI

##### **Cel tematu**

Celem tematu badawczego 1 było wykonanie krzyżowań wypierających (wstecznych) z liniami wyselekcjonowanymi w 2017 roku. Jako rodziców wypierających wykorzystano 4 odmiany pszenic ozimych: Hondia, Euforia, RGT Bilanz, Formacja. Kolejny etap prowadzonych prac obejmował selekcję fenotypową materiału roślinnego pod kątem odporności/podatności na choroby grzybowe tj.: rdza brunatna zbóż i traw oraz mączniak prawdziwy zbóż i traw, a następnie przeprowadzenie selekcji molekularnej materiału roślinnego przy wykorzystaniu specyficznych markerów molekularnych pod kątem obecności wprowadzonych genów odporności (tab. 1). Końcowy etap prowadzonych prac obejmował wytypowanie genotypów o spiramidyzowanym tle odpornościowym.

Tabela 1

**Selekcja molekularna materiału roślinnego przy wykorzystaniu specyficznych markerów molekularnych pod kątem obecności wprowadzonych genów odporności**

Gen	Marker(y)
<i>Pm21</i>	NAU/xibao (902 pz) <sup>1</sup>
<i>Lr47</i>	(PSCAPSR+PS10L+PS10L2) <sup>2</sup> (400 pz), Gwm60 (180 pz) <sup>3</sup>
<i>Lr41</i>	Gdm35 (170 pz), Barc124 (250 pz), Gwm210 (182 pz), Gwm296 (135 pz), Gwm261 (160–200 pz) <sup>4</sup>
<i>Pm34</i>	Xbarc177 (129-138 pz), Xbarc144 (235 pz) <sup>5</sup>
<i>Pm37</i>	Gwm332 (192 pz), Wmc790 (149 pz), STSBE406627 (550 pz), STSBE445653 (750 pz) <sup>6</sup>

Legenda: <sup>1</sup>Cao i in., 2006; <sup>2</sup>Helguera i in., 2000; <sup>3</sup>Vanzetti i in., 2006; <sup>4</sup>Singh i in., 2004; <sup>5</sup>Miranda i in., 2006; <sup>6</sup>Perugini i in., 2008

Celem tematu badawczego 1 było również wytypowanie polimorficznego(ych) markera(ów) molekularnego(ych) wykorzystywanego(ych) do selekcji materiału roślinnego pod kątem obecności genu odporności na rdzę brunatną zbóż i traw — genu *Lr55*.

**Opis wyników**

Wykonano łącznie 16 kombinacji krzyżówek wstecznych, w których rodzicami wypierającymi były odmiany pszenic ozimych: Hondia, Formacja, RGT Bilauz oraz Euforia (tab. 2).

Tabela 2

**Populacje mieszańcowe BIO w odniesieniu do piramid genowych oraz krzyżowań wstecznych**

Lp.	Nazwa populacji	Piramida genowa	Krzyżowania wsteczne wykonane w 2018 roku
1	BIO_1	( <i>Lr41+Pm21+Lr47</i> )	Hondia (1) Formacja (2) RGT Bilauz (3) Euforia (4)
2	BIO_2	( <i>Lr4 +Pm21+Lr47+Pm34</i> )	Hondia (5) Formacja (6) RGT Bilauz (7) Euforia (8)
3	BIO_3	( <i>Lr41+Pm21+Lr47+Pm37</i> )	Hondia (9) Formacja (10) RGT Bilauz (11) Euforia (12)
4	BIO_4	( <i>Lr41+Pm21+Pm37+Lr47+Pm34</i> )	Hondia (13) Formacja (14) RGT Bilauz (15) Euforia (16)

Łącznie otrzymano 600 ziarniaków. Następnie w stadium drugiego liścia przeprowadzono inokulację roślin wykorzystując dwa różnicujące izolaty *B. graminis* oraz *P. recondita*. Na podstawie reakcji odporności/podatności do badań molekularnych wyselekcjonowano łącznie 300 linii, jednocześnie odpornych na oba patogeny. Przy wykorzystaniu specyficznych markerów DNA wytypowano linie o określonych piramidach genowych. Na podstawie przeprowadzonych analiz molekularnych wyselekcjonowano do dalszych badań genotypy o następującym profilu odpornościowym: (*Pm21 + Lr47 + Lr41*), (*Lr47 + Lr41 + Pm34 + Pm37*), (*Lr47 + Lr41 + Pm37*), (*Lr41 + Pm34 + Pm37*), (*Pm21 + Lr41 + Pm37*) oraz (*Pm21 + Pm34 + Pm37*).

Na podstawie analiz genetycznych ustalono rozmieszczenie genu *Lr55* wraz z markerami oraz określono odległości genetyczne pomiędzy nimi.

#### **Wnioski**

- Na drodze krzyżowań zbieżnych oraz wstecznych możliwe jest wprowadzenie do odmian pszenic uprawnych efektywnych genów odporności oraz różnych kombinacji tych genów.
- Przeprowadzone w badaniach testy fenotypowe skutecznie różnicują materiał roślinny pod kątem reakcji: odporności, podatności oraz typu pośredniego.
- Selekcja molekularna przy wykorzystaniu markerów DNA skutecznie identyfikuje w materiale roślinnym wprowadzane geny odporności.
- Potwierdzono, że gen *Lr55* zlokalizowany jest na chromosomie 1BS.
- Mapowany fragment jest związany z rejonem syntenicznym do *Elymus trachycaulis*.
- Na podstawie uzyskanych segregacji dla populacji mapującej (Bogatka × *Lr55*) do identyfikacji genu *Lr55* wyznaczono markery molekularne, które będzie można wykorzystywać do selekcji tego genu w materiale roślinnym.

### TEMAT BADAWCZY 2. POSZUKIWANIE NOWYCH ŹRÓDEŁ ODPORNOŚCI

#### **Cel tematu**

W bieżącym roku sprawozdawczym, celem tematu badawczego 2 było poszukiwanie nowych, potencjalnie efektywnych źródeł odporności na choroby grzybowe, czyli mączniaka prawdziwego zbóż i traw oraz rdzę brunatną zbóż i traw.

#### **Opis wyników**

Po 8–10 dniach od inokulacji oceniano reakcję roślin wykorzystując do tego pięciostopniową skalę Levine i Cherewick, gdzie rośliny o reakcji 0–2 oceniano jako odporne, 3–4 jako podatne (Czembor i Czembor, 2001). Doświadczenia obejmujące ocenę wykorzystywanych w badaniach źródeł odporności pod kątem reakcji na populację *P. recondita* potwierdziły, że za efektywne źródła odporności nadal można uznać linie z genami: *Lr41* oraz *Lr55*. Natomiast linia z genem odporności *Lr47* daje odporność częściową na *P. recondita* aktualnie występującą w Polsce. W odniesieniu do dawnej odmiany pszenicy Ostka Czerwona Lopuska (*Lr* unknown) badane izolaty wykazywały wysoki poziom wirulencji o typie reakcji ocenianej w skali 3–4. Testy fenotypowe przeprowadzone pod kątem reakcji materiału roślinnego na izolaty *B. graminis* potwierdziły, że efektywnymi źródłami na mączniaka prawdziwego pszenicy są linie z genem *Pm21* oraz *Pm37*. Natomiast linia z genem *Pm34* warunkuje odporność częściową. Wszystkie izolaty pszeniczne oraz pszenżytnie porażały dawną odmianę pszenicy Stieglera 22 (*Pm* unknown), klasyfikowaną w grupie odmian podatnych na *B. graminis* aktualnie występującą na terenie Polski.

#### **Wnioski**

- Izolaty *P. recondita* oraz *B. graminis* charakteryzowały się zróżnicowanym stopniem wirulencji w stosunku do genów odporności obecnych w zestawie odmian i linii różnicujących.

- Za efektywne źródła odporności na rdzę brunatną można uznać linie z genami: *Lr41* oraz *Lr55*, a także *Lr47*.
- Nowe źródło odporności na rdzę brunatną pszenicy odmiana Ostka Czerwona Lopuska (*Lr unknown*) była całkowicie porażana przez izolaty *P. recondita*.
- Za efektywne źródła na mączniaka prawdziwego można uznać linie z genami: *Pm21*, *Pm37* oraz *Pm34*.
- Nowe źródło odporności na mączniaka prawdziwego zbóż i traw odmiana Stieglera 22 (*Pm unknown*) charakteryzowała się reakcją podatności na populację *B. graminis*.
- Formy dzikie i im pokrewne stanowią unikatowe źródła odporności na ważne z punktu widzenia hodowcy choroby.

### TEMAT BADAWCZY 3. OCENA LINII W RÓŻNYCH WARUNKACH ŚRODOWISKOWYCH

#### **Cel tematu**

Celem tematu badawczego 3 w 2018 roku była ocena materiału roślinnego pod kątem reakcji na najczęściej występujące choroby zbóż oraz selekcja materiału roślinnego pod kątem korzystnych cech gospodarczych.

#### **Opis wyników**

Celem tematu badawczego 3 w 2018 roku była ocena materiału roślinnego pod kątem reakcji na najczęściej występujące choroby zbóż oraz selekcja materiału roślinnego pod kątem korzystnych cech gospodarczych. Jesienią 2017 roku, w trzech lokalizacjach: Radzików (IHAR — PIB), Strzelce (HR Strzelce) oraz Smolice (HR Smolice), założono selekcyjne doświadczenia jednopowtórzeniowe. Dla wszystkich punktów doświadczalnych materiał roślinny stanowiły 3240 linii pszenic ozimych. W ocenie materiału roślinnego uwzględniono łącznie 7 cech w tym: (1) przezimowanie, (2) kłoszenie, (3) wysokość, odporność na choroby: (4) rdza brunatna oraz (5) żółta, (6) mączniak prawdziwy, (7) septoriozy. Łącznie obserwowano 7 cech (na każdą z trzech miejscowości). Obiekty o wysokiej odporności na choroby oraz o korzystnych cechach gospodarczych stanowiły materiał wyjściowy do dalszych badań.

#### **Przebieg doświadczenia w Radzikowie**

Na poletkach doświadczalnych w Radzikowie wysiano łącznie 1056 linii. W odniesieniu do każdego obiektu przeprowadzono ocenę przezimowania. Materiał roślinny powszedził oraz przezimował prawie w 100% (2 linie nie przezimowały, co stanowiło 0,18%). Materiał roślinny charakteryzował się terminem kłoszenia typu średnio-wczesnego. Wszystkie oceny porażenia chorobami wykonane zostały przełom czerwca oraz lipca br. w odniesieniu do 9-stopniowej skali, gdzie 1 — oznacza całkowite porażenie, do 9 — brak objawów porażenia. Ciepła i sucha pogoda, prawdopodobnie przyczyniły się do występowania mączniaka prawdziwego w minimalnym nasileniu. Większość ocenianych linii pod kątem odporności na *B. graminis* oceniana była w skali od 7 do 9. Odnotowano występowanie rdzy brunatnej, żółtej (w dużym nasileniu) oraz septoriozy liści. Do dalszych etapów badań wytypowano rośliny o odporności na choroby ocenianej wg skali od 8 do 9 dla rdzy brunatnej oraz mączniaka prawdziwego, rdza żółta

oceniana od 7 do 9, septorioza liści od 5 do 9. Reszta materiału roślinnego została wyeliminowana z dalszych etapów badań. Na podstawie przeprowadzonych obserwacji polowych wyselekcjonowano do dalszych badań 260 linii.

#### **Przebieg doświadczenia w HR Strzelce**

Jesienią 2017 roku na polu hodowlanym w Strzelcach wysiano w siewie rzędownym 1083 linie kłosowe pszenicy ozimej. Dodatkowo dla wybranych genotypów z zeszłego roku założono doświadczenie polowe z 20 liniami. Ze szczególną uwagą monitorowano rozwój mączniaka prawdziwego oraz rdzy brunatnej. Przebieg zimy w sezonie vegetacyjnym 2017/18 był dość łagodny, dlatego też, nie zaobserwowano znaczących różnic w przezimowaniu omawianych materiałów. W celu oceny cech rolniczych wykonano obserwacje daty kłoszenia oraz oceny występowania chorób grzybowych, wysokości i pokroju roślin. Pierwsze obserwacje dotyczące chorób grzybowych wykonano na przełomie maja i czerwca dotyczyły one pojawienia się objawów mączniaka prawdziwego. W celu porównania linii zestawiono je z odmianami wzorcowymi COBORU oraz najczęściej uprawianymi odmianami pszenicy. Wyselekcjonowano obiekty, celem sprawdzenia potencjału plonowania oraz zbadania podstawowych cech jakościowych.

#### **Przebieg doświadczenia w HR Smolice**

Na poletkach obserwacyjnych w Kobylin — Smolice wysiano po 3 rządki 364 linie pszenicy ozimej (razem 1092 linie). Ocena materiału roślinnego dokonywana była w odniesieniu do 9-stopniowej skali, gdzie 1 — oznacza całkowite porażenie, do 9 — brak objawów porażenia. Wszystkie materiały powschodziły i przezimowały bardzo dobrze (100%). Septorioza liści w roku bieżącym nie wystąpiła, natomiast mączniak prawdziwy zbóż i traw wystąpił w bardzo małym nasileniu. Dodatkowo materiał roślinny oceniono pod kątem wylegania. Na podstawie przeprowadzonych obserwacji polowych do doświadczeń zakładowych DZ I wytypowano 29 linii. Na podstawie przeprowadzonych obserwacji polowych w 2018 roku linie, które wyselekcjonowano w 2017 roku wyeliminowano z dalszej analizy ze względu na niską plenność oraz porażenie chorobami.

#### **Wnioski**

- Warunki atmosferyczne panujące w 3 lokalizacjach w sezonie 2017/2018 były niesprzyjające dla rozwoju mączniaka prawdziwego zbóż i traw.
- W sezonie 2017/2018 we wszystkich punktach doświadczalnych wystąpiła rdza brunatna oraz żółta.
- W Smolicach nie wystąpiła septorioza liści.
- Na podstawie przeprowadzonych obserwacji wytypowano genotypy do dalszych badań.

#### LITERATURA

- Cao A. Z., Wang X. E., Chen Y. P., Zou X. W., Chen P. D. 2006. A sequence-specific PCR marker linked with *Pm21* distinguishes chromosomes 6AS, 6BS, 6DS of *Triticum aestivum* and 6VS of *Haynaldia villosa*. *Plant Breeding* 125: 201 — 205.
- Czembor H. J., Czembor J. H. 2001. Resistance to powdery mildew in barley cultivars and breeding lines included in 1998–2000 Polish registration trials. *Plant Breeding and Seed Science* 45 (1): 21 — 41.

- Helguera M., Khan I. A., Dubcovsky J. 2000. Development of PCR markers for the wheat leaf rust resistance gene *Lr47*. *Theor. Appl. Genet.* 100: 1137 — 1143.
- Mains E. B., Dietz S. M. 1930. Physiologic forms of barley mildew, *Erysiphe graminis hordei* Marchal. *Phytopathol.* 20: 229 — 239.
- Miranda L. M., Murphy J. P., Leath S., Marshall D. 2006. *Pm34*: a new powdery mildew resistance gene transferred from *Aegilops tauschii* Coss. to common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 113: 1497 — 1504.
- Perugini L. D., Murphy J. P., Marshall D., Brown-Guedira G. 2008. *Pm37*, a new broadly effective powdery mildew resistance gene from *Triticum timopheevii*. *Theor. Appl. Genet.* 116: 417 — 425.
- Singh S., Franks C. D., Huang L., Brown-Guedira G. L., Marshall D. S., Gill B. S. 2004. *Lr41*, *Lr39*, and a leaf rust resistance gene from *Aegilops cylindrica* may be allelic and are located on wheat chromosome 2DS. *Theor. Appl. Genet.* 108: 586 — 591.
- Vanzetti L. S., Brevis J. C., Dubcovsky J. 2006. Identification of microsatellites linked to *Lr47*. *Electronic Journal of Biotechnology* 9 (3): 267 — 271.