

SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE

z realizacji zadania na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w 2014 roku

Tytuł zadania: **Poszukiwanie źródeł genetycznej odporności na mączniaka i rdzę w kolekcji linii, rodów i odmian żyta**

Celem tematu badawczego była weryfikacja odporności genotypów żyta ozimego na aktualne rasy mączniaka prawdziwego oraz rdzy brunatnej w warunkach naturalnej infekcji i sztucznej inokulacji, co pozwoli na wytypowanie genotypów zawierających efektywne geny odporności na patogeny.

Materiał badawczy stanowiły przekazane przez hodowców materiały hodowlane żyta ozimego, linie wsobne z kolekcji oraz zarejestrowane odmiany, które zostały użyte jako wzorce. W roku 2014 poddano łącznie testowaniu w kierunku poszukiwania odporności na mączniaka prawdziwego 505 genotypów żyta oraz na rdzę brunatną 463 genotypy w doświadczeniach infekcyjnych. Były to dostarczone przez hodowców linie wsobne, populacje oraz odmiany wzorcowe (Antonińskie, Bojko, Bosmo, Brasetto, Dańkowskie Diament, HRSM 50, Stakkato) oraz własne linie wsobne pochodzące z kolekcji Katedry Genetyki, Hodowli Roślin i Nasiennictwa Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

Ocenę podatności genotypów żyta na porażenie przez *Blumeria graminis* przeprowadzono w doświadczeniu szklarniowym zgodnie z metodyką przedstawioną w pracy Zamorski i wsp. (1994). Posługiwano się czterostopniową skalą porażenia (1–4), gdzie 1 – oznaczało brak objawów natomiast 4 – bardzo silne porażenie z koloniami mączniaka zajmującymi 75–100% powierzchni blaszek liściowych. Szklarniowe doświadczenia infekcyjne przeprowadzano wykorzystując połowę populację patogena utrzymywaną na siewkach wrażliwej odmiany żyta. Ocenę podatności genotypów żyta na porażenie przez rdzę brunatną (*Puccinia recondita*) wykonano metodą laboratoryjną. Na szlakach Petriego przygotowano pożywkę składającą się z agaru z dodatkiem benzimidazolu. Oceny porażenia dokonywano po dziesięciu dniach od inokulacji, w skali czterostopniowej, gdzie 1 – brak porażenia, a 4 - silne objawy porażenia rdzą brunatną na liściu. Ponadto w celu poszukiwania genotypów odpornych na obydwa patogeny wykonano obserwacje stopnia porażenia linii wsobnych w warunkach polowych pod wpływem naturalnej inokulacji. Obserwacje wykonano w ogólnie przyjętej przez hodowców oraz ocenę odmian 9-cio stopniowej skali bonitacyjnej, gdzie 9 oznacza całkowitą odporność, brak objawów porażenia, a 1 - silną podatność, czyli objawy porażenia roślin występują na 75-90 % powierzchni liści. Wyniki opracowano statystycznie po ich transformacji w celu spełnienia warunków koniecznych do analiz, czyli uzyskania ciągłości rozkładu oraz rozkładu normalnego.

Do identyfikacji genów odporności na mączniaka prawdziwego i rdzę brunatną u badanych genotypów żyta wykorzystano opracowane i znane z literatury sekwencje starterowe dające markery molekularne sprzężone z poszczególnymi genami. Wybrano w tym celu po 20 linii odpornych i tolerancyjnych na obydwa rodzaje patogenów oraz po 20 linii podatnych. W sumie wyizolowano DNA z 80 genotypów żyta. Materiał do izolacji genomowego DNA stanowiły liście siewek. Do izolacji całkowitego DNA z roślin wykorzystano metodę oczyszczania przy użyciu zestawów do izolacji Qiagen DNeasy Plant kit. Wyizolowane DNA genomowe posłużyło do poszukiwania markerów molekularnych sprzężonych z genami odporności na mączniaka prawdziwego i rdze brunatną u przesłanych przez hodowców form żyta ozimego. Produkty amplifikacji analizowano elektroforetycznie. W każdym rozdziale stosowano marker wielkości fragmentów DNA (MassRuler DNA Ladder 100bp i 200bp, Fermentas) jako standard zewnętrzny i odmianę lub linię referencyjną jako próbę kontrolną swoistości reakcji dla każdej serii reakcji PCR oraz próbę kontrolną z samą wodą. Żele barwiono wodnym roztworem bromku etydydy (5 µg/ml). Wybarwiony żel analizowano w świetle UV i archiwizowano w formie plików TIFF programem komputerowym Intas GDS.

Wśród badanych genotypów żyta stwierdzono występowanie form całkowicie odpornych na mączniaka prawdziwego (*Blumeria graminis*), które mogą stanowić potencjalne źródło odporności, w programach hodowlanych żyta, bez obniżania plonu i wartości innych cech użytkowych. W tym celu mogą być wykorzystane rody DC 1212, DC 1222, DC 1229 oraz CHD Ma 270, CHD Ma 281, CHD Ma 302, HRSM 242-R, HRSM 244-R, HRSM 247-R. Analizy wyników pod wpływem sztucznej

inokulacji przez rdzę brunatną wykazały, że istnieją genotypy odporne lub wysoce tolerancyjne na tego patogena, które można polecić do programów hodowli odpornościowej. Udało się znaleźć 10 genotypów bez śladów zarodników rdzy brunatnej na liściach (LAD Ma 160, CHD Ma 341, CHD Ma 344, CHD Ma 354, CHDM Ma 397, CHD Ma 399, CHD Ma 406, CHD Ma 407, HRSM 233-R, HRS, 250-R). Nie stwierdzono natomiast genotypów charakteryzujących się pełną polową odpornością na mączniaka prawdziwego. Jedynie linia UP 138 była w wysokim stopniu tolerancyjna i można ją polecić do programów hodowli odpornościowej. Ponadto nie występowały formy o całkowitej polowej odporności na rdzę brunatną wśród badanych genotypów żyta ozimego. Wszystkie badane linie wykazywały objawy porażenia przez *Puccinia recondita*. Jedynie dwa genotypy żyta (UP 164 i UP 264) posiadają względną odporność na mączniaka prawdziwego i rdzę brunatną.

Zastosowanie technik molekularnych potwierdziło przydatność markera ResPm4 do poszukiwania genów odporności Pm4 na mączniaka prawdziwego u żyta ozimego. Występowanie markera ResPm4 w grupie form żyta najmniej podatnych na porażenie mączniakiem prawdziwym, wskazuje na jego sprzężenie z cechą odporności. Na uwagę zasługuje również marker sprzężony z genem Pm46 występujący jedynie u form tolerancyjnych na mączniaka prawdziwego. Użyte startery mikrosatelitarne pozwoliły również na wykazanie obecności genów odporności na rdzę brunatną u niektórych z analizowanych genotypów żyta ozimego. Markery te wymagają jednak sprawdzenia na większej liczbie genotypów odpornych, aby można je było rekomendować do weryfikacji genów odporności na rdzę brunatną w materiałach hodowlanych żyta ozimego