

SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE

z realizacji zadania nr 22 na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w 2015 roku

Temat 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 oraz po sztucznej inokulacji, co pozwoliło na wytypowanie genotypów zawierających efektywne geny odporności na badane gatunki patogenów.

Materiał badawczy stanowiły przekazane przez hodowców oraz własne materiały hodowlane żyta ozimego, linie wsobne z kolekcji roboczych oraz odmiany, które zostały użyte jako wzorce. W roku 2015 poddano łącznie testowaniu w kierunku poszukiwania odporności na mączniaka prawdziwego i na rdzę brunatną 203 genotypy w doświadczeniach infekcyjnych. Natomiast w doświadczeniach polowych uczestniczyło 161 genotypów..

Ocenę podatności genotypów żyta na mączniaka prawdziwego (*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 przeprowadzono wykorzystując połowę populację patogena utrzymywaną na siewkach wrażliwej odmiany żyta. Ocenę podatności genotypów żyta na rdzę brunatną (*Puccinia recondita*) wykonano metodą laboratoryjną. Na szlakach Petriego przygotowano pożywkę składającą się z agaru z dodatkiem benzimidazolu, na które wykładano liście siewek badanych genotypów. 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 poszukiwania i identyfikacji genów odporności na mączniaka prawdziwego i rdzę brunatną u badanych genotypów żyta wykorzystano znane z literatury sekwencje starterowe dające markery molekularne sprzężone z poszczególnymi genami. Wybrano w tym celu linie odporne lub w dużym stopniu tolerancyjne na obydwa rodzaje patogenów oraz linie podatne. W sumie wyizolowano DNA z 24 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 formy) całkowicie odpornej na mączniaka prawdziwego (*Blumeria graminis* f. sp. *secalis*) (CHD Ma 322, która może stanowić potencjalne źródło odporności, w programach hodowlanych żyta. Stwierdzono ponadto dwa genotypy, które w niewielkim

stopniu ulegały porażeniu (CHD Ma 324 i SOA Ma 30). Analizy wyników oceny porażenia genotypów żyta przez rdzę brunatną (*Puccinia recondita*) w wyniku sztucznej inokulacji wykazały, że istnieją genotypy odporne lub wysoce tolerancyjne na tego patogena, które można polecić do programów hodowli odpornościowej. Udało się znaleźć 15 genotypów bez śladów zarodników rdzy brunatnej na liściach (CHD Ma 285, CHD Ma 289, CHD Ma 292, CHD Ma3 294, CHD Ma 295, CHD Ma 315, LAD Ma 166, LAD Ma 186, LAD Ma 193, SOA Ma 1, SOA Ma 28, SOA Ma 29, WTD 16 i WTD 20), które można uznać za odporne na porażenie przez tego patogena. Brak istotnych korelacji pomiędzy porażeniem przez mączniaka prawdziwego a rdzą brunatną sugeruje, że istnieje możliwość wyprowadzenia nowych genotypów żyta o poprawionej odporności na obydwaj patogeny.

Warunki pogodowe panujące w bieżącym roku utrudniły obiektywną ocenę polowej odporności na mączniaka prawdziwego. Większość analizowanych linii wsobnych żyta uzyskało najwyższą ocenę, co nie świadczy jednak o tym, że posiadają one pełną odporność na mączniaka prawdziwego. Wykazano duże zróżnicowanie badanych linii wsobnych żyta w odporności na *Puccinia recondita*. Brak objawów porażenia przez rdzę brunatną odnotowano u siedmiu linii UP5_5, UP5_6, UP5_7, UP5_10, UP5_11, UP5_109 i UP5_149, które można uznać za odporne na porażenie przez tego patogena.

Wykazano, że do poszukiwania genów odporności mączniaka prawdziwego u żyta ozimego można wykorzystać markery mikrosatelitarne związane z genami Pm4 oraz PmU. Produkty amplifikacji charakterystyczne dla tych markerów występowały jedynie w grupie genotypów żyta najmniej podatnych na porażenie mączniakiem prawdziwym, co wskazuje na ich sprzężenie z cechą odporności. Użyte startery mikrosatelitarne pozwoliły na wykazanie obecności genów odporności na rdzę brunatną u niektórych z analizowanych genotypów żyta ozimego. Markery te wymagają jednak dalszego sprawdzenia na większej liczbie genotypów odpornych, aby można je było rekomendować do weryfikacji genów odporności na rdzę brunatną w materiałach hodowlanych żyta ozimego.

Prof. dr hab. Henryk Bujak