

PSZENICA, Wiśniewska^{1*} Halina, Majka¹ Maciej, Gawłowska¹ Magdalena., Korbas² Marek., Belter¹ Jolanta

¹Instytut Genetyki Roślin, Polskiej Akademii Nauk, Poznań

²Instytut Ochrony Roślin, Państwowy Instytut Badawczy, Poznań

*Wisniewska Halina: hwis@igr.poznan.pl, nr telefonu: 662 044 293.

Prace zostały wykonane w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej na podstawie decyzji: *nr decyzji (HOR. hn.802.18.2018), zadanie nr 2.*

Wykorzystanie markerów molekularnych i fenotypowych do identyfikacji genów odporności pszenicy na łamliwość źdźbła powodowaną przez *Oculimacula yallundae* *ulimacula acufomis*

Słowa kluczowe: geny *Pch1*, *Pch2*, łamliwość źdźbła, markery molekularne, *Oculimacula*, pszenica

Wstęp

Łamliwość źdźbła to jedna z najważniejszych chorób pszenicy uprawnej (*Triticum aestivum* L.) Powodowana jest przez dwa grzyby patogeniczne *Oculimacula yallundae* i *O. acufomis*. Szczególnie podczas łagodnych zim i chłodnych wiosen, na zewnętrznych pochwach liści pszenicy występują bursztynowo-brązowe plamy. W trakcie wegetacji patogen z pochw liściowych przedostaje się na podstawy źdźbła, gdzie na obszarze plam w źdźble tworzy się watowata grzybnia. Skutkiem tego podstawa źdźbła próchnieje i powoduje łamliwość źdźbła, co może powodować ubytek plonu nawet do 50%. Istnieje kilka źródeł odporności na łamliwość podstawy źdźbła, lecz dotąd tylko dwa geny, *Pch1* i *Pch2* zostały przeniesione do pszenicy uprawnej i warunkują odporność. Gen *Pch1* jest najbardziej efektywny, został zidentyfikowany w *Aegilops ventricosa* i translokowany do długiego ramienia chromosomu 7D heksaploidalnej pszenicy. Nie zapewnia on całkowitej odporności rośliny, jednakże znacząco redukuje skalę porażenia. Drugim genem, który w mniejszym stopniu warunkuje odporność na łamliwość źdźbła jest *Pch2* zlokalizowany na dłuższym ramieniu chromosomu 7A pszenicy odmiany „Capelle-Desprez”.

Cele badań w roku 2018:

1. Piramidyżacja genów odporności *Pch1* i *Pch2* na łamliwość źdźbła u heksaploidalnej pszenicy
Identyfikowanie obecności genu *Pch1* przy użyciu markera izoenzymatycznego w postaci endopeptydazy *EpD1b* oraz genów *Pch1* i *Pch2* przy użyciu markerów SSR.

2. Ocena porażenia siewek genotypów pszenicy (test w fitotronie) i dojrzałych źdźbeł (test polowy w fazie 1-2 kolanka; z użyciem zawiesiny grzybni i zarodników *O. yallundae* i *O. acufiformis*) oraz ocena naturalnego porażenia w lokalizacjach.
3. Analiza elementów struktury plonu badanych form - określenie wpływu genów *Pch1* i *Pch2* na cechy agronomiczne.

Materiały i Metody

Materiał badawczy dla piramidyzacji genów *Pch1* i *Pch2* stanowiły formy pszenicy ozimej u których w badaniach prowadzonych w tym projekcie w roku 2017 i wcześniej stwierdzono w testach inokulacyjnych podwyższoną odporność na patogeny z rodzaju *Oculimacula* i zidentyfikowano przy pomocy markerów molekularnych i markera izoenzymatycznego geny związane z odpornością na te patogeny: gen *Pch1* (6 linii i odm. Kometa) lub gen *Pch2* (3 linii i odm. Patras) oraz cztery linie, u których stwierdzono jednocześnie oba geny *Pch1* i *Pch2* - **temat badawczy nr 1**.

Materiał do identyfikacji molekularnej w genotypach pszenicy genów *Pch1* i *Pch2* oraz do oceny podatności genotypów pszenicy na łamliwość źdźbła w testach inokulacyjnych siewkowych i polowych stanowiło 200 genotypów pszenicy ozimej o zróżnicowanym podłożu genetycznym, trzy odmiany kontrolne, odm. Rendezvous - wzorzec odporności – **temat badawczy nr 2 i 3**.

Wyniki

Temat badawczy 1

Krzyżowania genotypów wybranych na podstawie wcześniejszych badań w celu piramidyzacji genów *Pch1* i *Pch2*

Wykonano krzyżowania wewnątrzgatunkowe (3 kombinacje) form pszenicy o stwierdzonej wcześniej podwyższonej odporności na patogeny z rodzaju *Oculimacula* oraz ze zidentyfikowanymi przy pomocy markerów molekularnych genów *Pch1* i *Pch2* związanych z odpornością na te patogeny oraz formy bez genów *Pch1* i *Pch2*. Uzyskano 236 ziarniaków mieszańcowych.

Temat badawczy 2

Wytworzenie skutecznego systemu markerów do identyfikacji molekularnej

spiramidyzowanych genów *Pch1* i *Pch2*

Celem badań w ramach tematu badawczego nr 2 był wybór efektywnych markerów dla genów *Pch1* i *Pch2* spośród dostępnych markerów SSR sprzężonych z chromosomami odpowiednio 7D i 7A. Dodatkowo, obecność genu *Pch1* była identyfikowana przy użyciu markera izoenzymatycznego w postaci endopeptydazy *EpD1b*. W badaniach wykorzystano 5 markerów molekularnych (tab. 1).

Tabela 1. Markery molekularne do identyfikacji molekularnej genów *Pch1* i *Pch2*

| Lp. | Marker | Gen | Lokalizacja w chromosomie |
|-----|--------------------------------|-------------|---------------------------|
| 1 | <i>EpD1b</i> (izoenzymatyczny) | <i>Pch1</i> | 7D |
| 2 | <i>Xust2001</i> | <i>Pch1</i> | 7D |
| 3 | <i>Xorw1</i> | <i>Pch1</i> | 7D |
| 4 | <i>Xcfa2040</i> | <i>Pch2</i> | 7A |
| 5 | <i>Xwmc525</i> | <i>Pch2</i> | 7A |

Wykazano obecność markerów *Pch1* i/lub *Pch2* w 25 genotypach pszenicy ozimej.

U odmiany odpornej *Rendezvous*, a także w 5 badanych genotypach pszenicy (15,4 % badanego materiału) stwierdzono przy pomocy markera izoenzymatycznego *EpD1b* i markerów molekularnych *Xust2001*, *Xorw1* obecność genu *Pch1*, a za pomocą pozostałych markerów molekularnych *Xcfa2040*, *Xwmc525* obecność genu *Pch2*. Geny te warunkują odporność pszenicy na grzyby patogeniczne z rodzaju *Oculimacula*, wywołujące chorobę zwaną łamliwością źdźbła; u 5 z tych genotypów potwierdzono obecność genu *Pch1* i *Pch2* również pozostałymi użytymi w badaniach markerami.

U kolejnych 4 genotypów pszenicy zaobserwowano przerwanie sprzężenia markera *Xust2001* z genem *Pch1*, wykazano obecność genów *Pch1* i *Pch2* pozostałymi markerami.

U 49 linii pszenicy ozimej stwierdzono tylko gen *Pch2*, a u pozostałych badanych genotypów pszenicy nie stwierdzono obecności genów *Pch1* *Pch2*.

Temat badawczy 3

Testy inokulacyjne badanych genotypów pszenicy oraz obserwacje naturalnego porażenia genotypów przez *O. acufomis* i *O. yallundae* na poletkach doświadczalnych w kilku miejscach Polski. Zbiór materiału roślinnego inokulowanego oraz analiza porażenia przez *O. acufomis* i *O. yallundae* w celu selekcji genotypów odpornych. Analiza korelacji między

cechami fenotypowymi roślin a ich odpornością na łąmliwość podstawy źdźbła

Cele tematu badawczego 3:

- wykorzystanie markerów fenotypowych do oceny porażenia przez sprawcę łąmliwości źdźbła siewek badanych genotypów pszenicy ozimej po indukowanej inokulacji siewek zawiesiną grzybni i zarodników *O. yallundae* i *O. aciformis* w doświadczeniu prowadzonym w fitotronie w IGR PAN.
- ocena porażenia przez grzyby z rodzaju *Oculimacula* dojrzałych źdźbeł badanych genotypów pszenicy ozimej w polowym teście inokulacyjnym (w fazie 1-2 kolanka; z użyciem zawiesiny grzybni i zarodników *O. yallundae* i *O. aciformis*) – poletka w Kopaszewie.
- ocena naturalnego porażenia przez sprawców łąmliwości źdźbła genotypów pszenicy ozimej w doświadczeniach prowadzonych w zróżnicowanych pod względem warunków klimatycznych lokalizacjach na terenie Polski

Nie obserwowano naturalnego porażenia pszenicy w naturalnych warunkach. W dużej mierze wynikało to z warunków pogodowych panujących przez cały sezon wegetacyjny, które uniemożliwiły rozwój grzybów pomimo inokulacji szczepami grzybów *O. yallundae* i *O. aciformis* charakteryzującymi się wysoką zdolnością do infekowania roślin pszenicy.

Genotypy z genami *Pch1* i *Pch2* cechowały się najmniejszym porażeniem siewek. Genotypy posiadające tylko gen *Pch1* wykazywały niższe porażenie siewek, niż genotypy posiadające tylko gen *Pch2*. Taka sama zależność obserwowana była dla inokulacyjnego testu polowego. Wykazano, że obecność genów *Pch1* i *Pch2* lub ich brak nie wpływała istotnie na plon ziarna z poletka. Stwierdzono brak istotnego wpływu obecności genów *Pch1*, *Pch2* lub ich braku na masę tysiąca ziarniaków (MTZ).

Wykazano, że obecność genów *Pch1* i *Pch2* lub ich brak nie wpływała istotnie na plon ziarna z poletka, chociaż plon był najwyższy przy obecności obu genów. Obserwowano również brak istotnego wpływu obecności genów *Pch1*, *Pch2* lub ich braku na masę tysiąca ziarniaków.

Wnioski

- Z kombinacji krzyżówkowych związanych z piramidyzacją u pszenicy genów *Pch1* i *Pch2* uzyskano 236 ziarniaków mieszańcowych - **temat badawczy 1**.
- U odmiany odpornej *Rendezvous*, a także w 5 genotypach pszenicy stwierdzono przy pomocy markera izoenzymatycznego *EpD1b* i markerów molekularnych *Xust2001*, *Xorw1* obecność

genu *Pch1*, a za pomocą pozostałych markerów molekularnych *Xcfa2040*, *Xwmc525* obecność genu *Pch2* (15,4% badanego materiału) - **temat badawczy nr 2.**

- U 49 genotypów pszenicy stwierdzono tylko gen *Pch2* - **temat badawczy nr 2.**
- Genotypy pszenicy z genami *Pch1* i *Pch2* cechowały się najmniejszym porażeniem siewek - **temat badawczy nr 3.**
- Genotypy pszenicy posiadające tylko gen *Pch1* wykazywały niższe porażenie siewek, niż genotypy posiadające tylko gen *Pch2*. Taka sama zależność obserwowana była dla inokulacyjnego testu polowego - **temat badawczy nr 3.**
- Wykazano, że obecność genów *Pch1* i *Pch2* lub ich brak nie wpływała istotnie na plon ziarna z poletka i masę tysiąca ziarniaków- **temat badawczy 3.**