

Sprawozdanie merytoryczne z wykonania zadania nr 2: „Wykorzystanie markerów molekularnych i fenotypowych do identyfikacji genów odporności pszenicy na łamliwość źdźbła powodowaną przez *Oculimacula yallundae* i *Oculimacula aciformis*”, w 2016 roku.

Halina Wiśniewska, Michał Kwiatek, Magdalena Gawłowska, Marek Korbas, Maciej Majka, Jolanta Belter oraz 2 pracowników pomocniczych

WPROWADZENIE

Łamliwość podstawy źdźbła jest jedną z najgroźniejszych chorób pszenicy. Występuje ona w rejonach, gdzie są łagodne zimy i chłodne wiosny. Na młodych roślinach pszenicy, na zewnętrznych pochwach liści występują początkowo bursztynowo-brązowe plamy rozwoju grzyba. 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. Wyleganie zbóż z powodu *Oculimacula yallundae* i *O. aciformis* jest znaczne. Nasilenie choroby próbowano w pewnych granicach zredukować poprzez środki skracające długość źdźbła, przyczyniające się w pewnej mierze do zmniejszenia wylegania. Zastosowanie genów karłowatości lub środków chemicznych w celu skrócenia długości źdźbeł jest coraz mniej zasadne, gdyż słoma znajduje zastosowanie jako materiał energetyczny. Do tej pory odkryto dwa efektywne geny odporności na omawianego patogena: *Pch1* i *Pch2*. Gen *Pch1* został zidentyfikowany w *Aegilops ventricosa* [$2n = 4x = 28$, $D^yD^yM^yM^y$] i translokowany do heksaploidalnej pszenicy wraz z locus kodującym endopeptydazę *EpD1b*. W pszenicy endopeptydaza 1 (*Ep-1*) jest kontrolowana przez 3 loci: *Ep-A1*, *Ep-B1* i *Ep-D1* zlokalizowanych odpowiednio w chromosomach: 7AL, 7BL i 7DL. *Ep-D1* posiada dwa allele: *Ep-D1a* – pochodzący z pszenicy oraz *Ep-D1b* – pochodzący z *Aegilops ventricosa*. *Ep-D1b* jest użytecznym markerem izoenzymatycznym, dziedziczonym kodominacyjnie. Jego identyfikacja pozwala stwierdzić obecność genu *Pch1*, ze względu na bliskie położenie tych dwóch sekwencji na dłuższym ramieniu chromosomu 7D (7DL). Według danych literaturowych marker *Ep-D1b* w 100 % określa reakcję na porażenie grzybami *Oculimacula yallundae* i *O. aciformis*. Opracowano także marker STS (*Xust SSR2001-7DL*), którego locus jest ściśle powiązane z locus *Ep-D1*. Drugim genem, który w mniejszym stopniu warunkuje odporność na łamliwość źdźbła jest *Pch2* zlokalizowany na dłuższym ramieniu chromosomu 7A pszenicy odmiany Capelle-Deprez. Warunkuje on odporność już w stadium siewki.

MATERIAŁ BADAWCZY I CEL BADAŃ

Materiał badawczy stanowiło 150 genotypów pszenicy o zróżnicowanym podłożu genetycznym oraz odmiana pszenicy ozimej „Rendezvous”- użyta jako wzorzec odporności na łamliwość podstawy źdźbła.

Tematy badawcze:

1. Krzyżowania międzyrodzajowe oraz międzygatunkowe z udziałem uprawnych i dzikich genotypów (*T. monococcum*, *Ae. ventricosa*), wybranych na podstawie wcześniejszych badań.
2. Poszukiwanie markerów molekularnych SSR sprzężonych z genem *Pch2*. Analiza występowania locus *XustSSR2001-7DL* sprzężonego z genem *Pch1* oraz badania izoenzymatyczne w celu określenia obecności endopeptydazy *EpD1b* sprzężonej z genem *Pch1*.
3. Testy inokulacyjne, oraz założenie poletek doświadczalnych w kilku powtórzeniach w miejscach, gdzie występuje naturalne porażenie przez *O. aciformis* i *O. yallundae*. Planowana liczba analizowanych genotypów - około 150.

Cel badań:

1. Przeniesienie genów odporności na łamliwość podstawy źdźbła do pszenicy zwyczajnej poprzez krzyżowania międzygatunkowe oraz międzyrodzajowe.
2. Wybór efektywnych markerów dla genów *Pch1*, *Pch2* i *QPch-5A* spośród dostępnych markerów SSR sprzężonych z chromosomami odpowiednio 7D, 7A i 5A i określenie efektywności wybranych markerów w odniesieniu do testów inokulacyjnych.

3. Ocena porażenia genotypów pszenicy ozimej przez sprawcę łamliwości źdźbła, po inokulacji zawieszoną grzybniami i zarodnikami *Oculimacula yallundae* i *O. aciformis* oraz ocena naturalnego porażenia badanych genotypów pszenicy ozimej przez te patogeny w czterech lokalizacjach

Metodyka badań:

Analiza izoenzymów

Do badań pobrano pięć roślin z każdego genotypu. Analizę polimorfizmu allozymów przeprowadzono w ekstraktach z 2 cm² świeżej tkanki liściowej. Izoenzymy analizowano za pomocą elektroforezy horyzontalnej na 10% żelu skrobiowym.

Analizy markerów SSR

Do badań pobierano pięć roślin z każdego genotypu. Izolację genomowego DNA analizowanych genotypów przeprowadzono przy użyciu metody CTAB. Analiza molekularna pod względem obecności markerów *Xust2001-7DL* (dla genu *Pch1*), *Xwmc525* (dla genu *Pch2*) *Xgwm346* i *Xbarc 197* (dla genu *QPch*) polegała na:

- amplifikacji fragmentów DNA za pomocą specyficznych starterów metodą PCR,
- rozdziale elektroforetycznym produktów amplifikacji na żelu agarozowym (2-3%).

Doświadczenia inokulacyjne

Testy inokulacyjne siewkowe

Inokulowano 3-tygodniowe, zastosowano inokulum o stężeniu 4,0 mln zarodników w 1 ml wody. Przez okres 6-8 tygodni rośliny podlewano w celu uzyskania wysokiej wilgotności właściwej dla infekcji patogena i utrzymywano w temperaturze do 10°C. Po tym czasie wykonano wizualną ocenę porażenia siewek.

Testy inokulacyjne polowe

W fazie 1-2 kolanka (BBCH 31-32, druga dekada kwietnia 2015 roku) zakażano suspensją mieszaniny zarodników i grzybniami *Oculimacula yallundae* i *O. aciformis* w proporcji 1:1 celem oceny podatności badanych genotypów na porażenie przez *Oculimacula yallundae* i *O. aciformis* w fazie rośliny dojrzałej. Stężenie inokulum wynosiło 4,0 mln zarodników w 1 ml.

Obserwacje naturalnego porażenia

Obserwacje naturalnego porażenia *Oculimacula yallundae* i *O. aciformis* wywołującym łamliwość podstawy źdźbła przeprowadzono w czterech lokalizacjach na terenie Polski, tj.: Smolice, Koberzyce, Strzelce i NAGRADOWICE.

Obserwacje temperatury i opadów

W w/w lokalizacjach przeprowadzono obserwacje warunków pogodowych panujących w trakcie trwania sezonu wegetacyjnego. W tym celu ewidencjonowano średnie wartości temperatur i sum opadów dla danych miesięcy sezonu wegetacyjnego.

Porównanie analiz identyfikacji markerów z wynikami testów inokulacyjnych

Na podstawie wyników laboratoryjnych oraz wyników testów inokulacyjnych dokonano wyboru form, które były odporne na *Oculimacula yallundae* i *O. aciformis*. Genotypy te zostały przekazane do banku genów IGR PAN i mogą być wykorzystane jako źródła odporności na *Oculimacula* ssp.

Wpływ cech fenotypowych i fizjologicznych na reakcji na porażenie przez *Oculimacula yallundae* i *O. aciformis*

Przeprowadzono analizę cech fenotypowych i fizjologicznych tj. wysokość plonu z poletka, masa tysiąca ziaren oraz ocena stopnia wylegania w odniesieniu do reakcji na porażenie przez *Oculimacula yallundae* i *O. aciformis*, która pozwoliła na oszacowanie skali interakcji między patogenami a rośliną. W tym celu dokonano analiz korelacji między elementami struktury plonu: masy tysiąca ziarniaków, plonu z poletka oraz stopnia wylegania w porównaniu do współczynnika porażenia (K) oraz średniego procentu porażonych źdźbeł.

WYNIKI

Temat nr 1. **Krzyżowania międzyrodzajowe oraz międzygatunkowe z udziałem uprawnych i dzikich genotypów (*T. monococcum*, *Ae. ventricosa*), wybranych na podstawie wcześniejszych badań.**

Wyniki:

Dokonano krzyżowań oddalonych, w wyniku których otrzymano 159 ziarniaków mieszańcowych. Najwięcej ziarniaków uzyskano z kombinacji (*Aegilops ventricosa* x *Triticum persicum*) x *T. aestivum* Chinese Spring. Brak ziarniaków stwierdzono natomiast w kłosach pszenicy heksaploidalnej zapylnych pyłkiem *Triticum monococcum*.

Dyskusja: Uzyskanie mieszańców międzyrodzajowych metodami wymuszonego krzyżowania napotyka niestety na wiele barier postzygotycznych (zamieranie zarodków, sterylność mieszańców, nieprawidłowy rozwój mieszańców). Stąd bardzo niska liczba otrzymanych ziarniaków w stosunku do liczby zapylnych kłosów. Różnice pomiędzy efektywnością krzyżowania gatunków z płemienia *Triticeae* spowodowane są także istnieniem barier genetycznych w postaci alleli dominujących genów *Kr1*, *Kr2*, *Kr3* i *Kr4*

Według danych literaturowych *Ae. ventricosa* jest źródłem genu *Pch1*. Natomiast *T. monococcum* może być źródłem odporności ze względu na skład genomowy ($2n=2x=14$, AA), biorąc pod uwagę, że gen *Pch2* i *QTL -5A* są odpowiednio w chromosomach 7A i 5A. Krzyżowania przeprowadzone zostały z modelową odmianą pszenicy „Chinese Spring”. Odmiana ta jest wykorzystywana przez większość zespołów badawczych w celu mapowania genetycznego. Ponadto do krzyżowań użyto formy nullisomiczne lub monosomiczne pod względem chromosomu 7A lub 7D, dzięki którym wprowadzenie chromosomów posiadających geny odporności będzie stabilne.

Temat badawczy nr 2. **Poszukiwanie markerów molekularnych SSR sprzężonych z genem *Pch2*. Analiza występowania locus *XustSSR2001-7DL* sprzężonego z genem *Pch1*, jego fizyczna lokalizacja w chromosomie oraz badania izoenzymatyczne w celu określenia obecności endopeptydazy *EpD1b* sprzężonej z genem *Pch1*.**

Wyniki:

Analiza izoenzymów

Obserwowane u badanych 150 genotypów pszenicy zymogramy wykazały zróżnicowanie. Typ zymogramu reprezentowany przez odmianę „Rendezvous”, obecny był również w 19 badanych genotypach i charakteryzował się trzema prążkami dla *Ep-D1b*, które identyfikują formy odporne na infekcję grzybową powodowaną przez *Oculimacula yallundae* i *O. acufiformis*. Tylko 13,33% stanowiły genotypy o typie wzoru charakterystycznym dla roślin odpornych. Jak wynika z danych literaturowych tylko obecność prążków dla *Ep-D1b* przy jednoczesnym braku prążków *Ep-D1a* gwarantuje odporność na łamliwość podstawy źdźbła.

Analiza markerów SSR

*Xust2001-7DL jako marker genu *Pch1**

Scharakteryzowano dwa produkty amplifikacji markera *Xust SSR2001-7DL* w postaci prążków o wielkości 240 par zasad (pz) oraz 220 pz. W rezultacie reakcji PCR przeprowadzonej z wykorzystaniem DNA kontrolnej odmiany ‘Rendezvous’ uzyskano produkt o wielkości 240 pz. W analizach poszczególnych genotypów obserwowano występowanie zarówno pojedynczych produktów (220 pz lub 240 pz) oraz obu produktów występujących jednocześnie. Amplifikacja w/w markera z DNA każdej z pięciu analizowanych roślin 18 genotypów (12,67%) dała produkt o wielkości 240 pz. Analizy molekularne 9 genotypów wykazały obecność zarówno produktu 220 jak i 240 pz.

*Xwmc525 jako marker genu *Pch2**

Reakcje PCR przeprowadzono z starterami markera *Xwmc525* wykorzystując genomowe DNA 5 roślin z każdego z 150 genotypów pszenicy. Scharakteryzowano produkty o wielkości 210; 215 oraz 320 par zasad. Odmiana wzorcowa, jak i 4 genotypy charakteryzowały się produktami o wielkości 210 pz., co

stanowiło 2,67% badanej puli genotypów. Ponadto, w przypadku 28 genotypów obserwowano dwa produkty reakcji jednocześnie.

Xgwm639 i *Xbarc197* jako markery flankujące gen *QPch*

Rozdział elektroforetyczny produktów reakcji PCR w wykorzystaniu starterów markera *Xgwm639* wykazał polimorficzność analizowanych linii. Obserwowano produkty o wielkościach 140; 150; 160; 170; 180 pz. W rezultacie reakcji PCR przeprowadzonej z wykorzystaniem DNA kontrolnej odmiany 'Rendezvous' uzyskano produkty o wielkości 140 i 160 pz. W przypadku markera *Xbarc197* obserwowano produkty amplifikacji o wielkościach 140; 150 i 160 pz. Reakcja z wykorzystaniem genomowego DNA odmiany wzorcowej pozwoliła scharakteryzować produkty o wielkości 140 i 160 pz. Produkty amplifikacji dwóch markerów wskazujących na obecność locus *QPch* zidentyfikowano w 24 genotypach, co stanowi 17,33 % puli badanych roślin.

Dyskusja

W pszenicy endopeptydaza 1 (*EP-1*) jest kontrolowana przez 3 loci: *Ep-A1*, *Ep-B1* i *Ep-D1* zlokalizowanych odpowiednio w chromosomach: 7AL, 7BL i 7DL. *Ep-D1* posiada dwa allele: *Ep-D1a* – pochodzący z pszenicy oraz *Ep-D1b* – pochodzący z *Aegilops ventricosa*. *Ep-D1b* jest użytecznym markerem izoenzymatycznym, dziedziczonym kodominacyjnie. Jego identyfikacja pozwala stwierdzić obecność genu *Pch1*, ze względu na bliskie położenie tych dwóch sekwencji na dłuższym ramieniu chromosomu 7D (7DL). Marker *Ep-D1b* w 100 % określa reakcję na porażenie grzybem *Oculimacula yallundae* i *O. acufiformis*. Wzór prążkowy właściwy dla form odpornych był charakterystyczny dla 20 genotypów, co pozwala stwierdzić, że genotypy te są stabilne pod względem obecności locus endopeptydazy *EpD1b* sprzężonej z genem *Pch1* warunkującym odporność na łamliwość podstawy źdźbła i mogą stanowić źródło odporności w dalszych procesach hodowlanych. W badaniach wykorzystano także marker *XustSSR2001-7DL*, którego locus jest powiązane z locus *Ep-D1*). W wyniku reakcji PCR z użyciem starterów flankujących tę sekwencję, amplifikowano fragmenty o długości 240 par zasad (pz) charakterystyczne dla roślin 19 genotypów posiadających *Ep-D1b*, pochodzące z *Ae. ventricosa* (warunkujące odporność); oraz fragmenty o długości 220 pz, które są sprzężone z locus *Ep-D1a* pszenicy zwyczajnej (charakteryzujące się brakiem odporności na porażenie). Wg danych literaturowych marker ten w 90% prawidłowo wskazuje roślinę odporną. Istnieje jednak 10% prawdopodobieństwo niewłaściwie przyporządkowanych genotypów względem fenotypu prawdopodobnie związane jest z dystansem genetycznym pomiędzy locus *Xust2001-7DL*, a locus *Ep-D1b* i w konsekwencji z locus genu *Pch1* – warunkującego odporność na porażenie.

Gen *Pch2* warunkuje odporność w stadium siewki, natomiast ma niewielki wpływ na odporność rośliny dorosłej. Jednakże wczesne zakażenie w stadium pierwszego lub drugiego liścia ma duży wpływ na brak zdolności rośliny do przezimowania a także może osłabić odporność rośliny w późniejszych etapach rozwoju. W czterech genotypach uzyskano produkty amplifikacji markerów *Xwmc525*, które charakteryzują genotypy posiadające gen *Pch2* (np. odmiana 'Rendezvous'). W tym jeden genotyp charakteryzował się także obecnością genu *Pch1*. Ponadto, istnieje QTL w chromosomie 5A, który kontroluje odporność na porażenie przez grzyby z rodzaju *Oculimacula* w stadium rośliny dojrzałej. W badanej puli 150 genotypów zidentyfikowano 24 genotypy charakteryzujące się locus *QPch*, w tym jeden genotyp cechował się genami *Pch1* i *Pch2*; cztery genotypy posiadały dodatkowo gen *Pch1* a jeden genotyp oprócz loci *QPch* posiadał locus genu *Pch2*. Obiecującym sposobem wykorzystania genów odporności, który daje nadzieję na zwiększenie spektrum działania i trwałości uzyskanej odporności, jest ich łączenie, czyli piramidyzacja. W tegorocznych badaniach zidentyfikowano 7 genotypów piramidyzujących geny odporności na łamliwość podstawy źdźbła. Wyniki testów polowych potwierdziły ekspresję genów odporności zidentyfikowanych w badanych genotypach. Pięć genotypów o zróżnicowanym podłożu genetycznym warunkującym odporność na łamliwość podstawy źdźbła wykazały brak porażenia grzybami z rodzaju *Oculimacula* w testach polowych i szklarniowych.

Temat badawczy 3. **Testy inokulacyjne, oraz założenie poletek doświadczalnych w kilku powtórzeniach w miejscach, gdzie występuje naturalne porażenie przez *O. acufiformis* i *O. yallundae*. Planowana liczba analizowanych genotypów – około 150.**

Wyniki:

Testy inokulacyjne siewkowe

Badane 150 genotypów pszenicy ozimej pod względem porażenia siewki przez grzyby z rodzaju *Oculimacula*. genotypy przyporządkowano do pięciu klas porażenia:

- W klasie 1 znalazło się pięć genotypów charakteryzujących się brakiem objawów porażenia.
- Do klasy drugiej, charakteryzującej genotypy o stopniu porażenia w zakresie 0,1-1, zakwalifikowano 66 genotypów.
- Klasa trzecia charakteryzowała rośliny o porażeniu w zakresie 1,1-2,0 (29 genotypów).
- Klasa 4 to 35 genotypów o porażeniu od 2,1-3,0.
- Piąta klasa obejmowała 18 genotypów o porażeniu od 3,1 do 4,0.

Średnia porażonych genotypów, posiadających gen *Pch2* (warunkujący odporność w stadium siewki) wynosiła 0,5 i była znacznie niższa od średniej porażonych genotypów bez genów odporności (3,8).

Testy inokulacyjne polowe

Na badanych próbach roślin określono procentowy udział źdźbeł porażonych oraz obliczono wskaźnik (K) porażenia źdźbła przez grzyby z rodzaju *Oculimacula*. Ze względu na stopień porażenia badane genotypy podzielono na pięć grup. Pierwsza grupa liczyła 6 genotypów, które charakteryzowały się brakiem porażenia. Druga grupa liczyła 39 roślin- źdźbła były porażone w zakresie od 2% do 5%. Kolejną, trzecią grupę stanowiło również 39 genotypów o porażeniu źdźbeł wynoszącym od 6% do 10%. Do czwartej grupy zaliczono 55 genotypów o wielkości porażenia zawierających się w przedziale 11% – 15% porażonych źdźbeł. Ostatnia grupa genotypów (16% – 28% porażonych źdźbeł) liczyła 18 roślin. Oba parametry charakteryzujące stopień porażenia badanych roślin przez grzyby z rodzaju *Oculimacula* wykazały wysoki stopień korelacji ($R^2=0,91$).

Obserwacje naturalnego porażenia

Obserwacje przeprowadzone w czterech lokalizacjach na terenie Polski, tj.: Smolice, Kobierzyce, Strzelce i Nagradowice wykazały brak naturalnego porażenia grzybem *Oculimacula yallundae* i *O. aciformis* wywołującym chorobę zwaną łamliwością podstawy źdźbła. Warunki pogodowe w 2016 roku nie sprzyjały rozwojowi grzybów z rodzaju *Oculimacula*. Powodem braku infekcji tymi gatunkami grzybów było wystąpienie silnych mrozów w styczniu 2016 r. przy jednoczesnym braku pokrywy śnieżnej, a także susza w okresie od maja do czerwca 2016.

Obserwacje temperatury i opadów

W każdej z czterech lokalizacji obserwowano dwie zmienne pogodowe, tj.: średnie wartości temperatur oraz średnie wartości sum opadów dla danych miesięcy sezonu wegetacyjnego.

Analizy cech fenotypowych i fizjologicznych

W czterech lokalizacjach analizowano cechy fenotypowe i fizjologiczne tj. wielkość plonu z poletka, masę tysiąca ziaren, oraz oceniano stopień wylegania. Nie obserwowano istotnych różnic między grupami

Dyskusja : Analiza porównawcza wyników testów inokulacyjnych przeprowadzonych na siewkach i w warunkach polowych w odniesieniu do identyfikacji markerów molekularnych związanych z genami warunkującymi odporność na łamliwość podstawy źdźbła pozwoliła stwierdzić, że w puli genotypów wysoce odpornych znalazły się genotypy posiadające zróżnicowane podłoże genetyczne warunkujące odporność w różnych stadiach rozwojowych rośliny. Ponadto w tegorocznych badaniach zidentyfikowano 7 genotypów piramidujących geny odporności na łamliwość podstawy źdźbła. Wyniki testów polowych potwierdziły ekspresję genów odporności zidentyfikowanych w badanych genotypach. Pięć genotypów wykazało brak porażenia grzybami z rodzaju *Oculimacula* w testach polowych przeprowadzonych na roślinach dojrzałych w stadium krzewienia oraz brak bądź znikome porażenie w stadium siewki.

Odnotowane zróżnicowanie wartości parametru określającego stopień wylegania może zatem być spowodowane innymi czynnikami, jak np. fuzaryjna zgorzel podstawy źdźbła i korzeni (*Fusarium* sp.) lub ostra plamistość oczkowa (*Rhizoctonia* sp.).

Biorąc pod uwagę średni plon genotypów posiadających geny odporności (zarówno w formie spiramidyzowanej, jak i pojedynczej), można wnioskować, że w odpornych genotypach nie przeniesiono cech mających wpływ na redukcję plonu. Wyniki te mogą mieć duże znaczenie dla hodowli, gdyż wg danych literaturowych, formy z w/w rodzajem translokacji (np. odmiana Rendezvous) charakteryzują się znacznym obniżeniem plonu w stosunku do średniej wartości plonu odmian pszenicy uprawnej.

W bieżącym roku średnie wartości wylegania nie różniły się między porównywanymi grupami genotypów. Brak różnic w tym aspekcie wynika z braku naturalnego porażenia grzybami *Oculimacula yallundae* i *O. aciformis* z powodu zdecydowanie za małej wilgotności w czasie i po infekcji.

Przeprowadzone analizy korelacji pomiędzy elementami struktury plonu oraz wielkościami charakteryzującymi wyleganie a wartościami związanymi z podatnością badanych genotypów na porażenie przez łamliwość podstawy źdźbła - wykazały niskie współczynniki korelacji, które wskazują na brak zależności między badanymi czynnikami. Duży wpływ na wyniki miał brak naturalnego porażenia przez w/w patogeny wśród genotypów poddanych analizie cech fenotypowych i fizjologicznych, co uniemożliwiło określenie wpływu porażenia na wybrane elementy struktury plonu. Jednak z drugiej strony, można wnioskować, że genotypy posiadające geny odporności na łamliwość podstawy źdźbła nie różnią się od form pszenicy bez tych genów pod względem wybranych elementów struktury plonu.

Podsumowanie

- W ramach krzyżowań pszenicy heksaploidalnej i dzikimi formami: *Triticum monococcum* i *Aegilops ventricosa* uzyskano 159 ziarniaków mieszańcowych. Powodem niskiej efektywności krzyżowań są różnice w ploidalności użytych form a także bariery postzygotyczne (zamieranie zarodków, sterylność mieszańców, nieprawidłowy rozwój mieszańców).
- 20 genotypów pszenicy ozimej, badanych w roku 2016, charakteryzowało się wzorem prążkowym właściwym dla endopeptydazy *EpD1b* sprzężonej z genem *Pch1*, warunkującym odporność na łamliwość podstawy źdźbła.
- 18 z 20 genotypów charakteryzujących się obecnością endopeptydazy *EpD1b* (charakterystycznej dla genotypów z genem *Pch1*) wykazało obecność formy allelicznej markera *Xust2001-7DL* sprzężonego z *locus* tej endopeptydazy. W dwóch genotypach sprzężenie to uległo zerwaniu.
- W czterech genotypach zidentyfikowano marker *Xwmc525*, który charakteryzuje genotypy posiadające gen *Pch2*, w tym jeden genotyp charakteryzował się także obecnością genu *Pch1*.
- W badanej puli 150 genotypów zidentyfikowano 24 genotypy charakteryzujące się *locus* *QPch*, w tym jeden genotyp cechował się genami *Pch1* i *Pch2*; cztery genotypy posiadały dodatkowo gen *Pch1*, a jeden genotyp oprócz loci *QPch* posiadał *locus* genu *Pch2*.
- W tegorocznych badaniach zidentyfikowano 7 genotypów piramidyzujących geny odporności na łamliwość podstawy źdźbła.
- Wyniki testów inokulacyjnych w stadium siewki i w stadium krzewienia (doświadczenie polowe) potwierdziły ekspresję genów odporności zidentyfikowanych w badanych genotypach. Pięć wykazało brak porażenia grzybami z rodzaju *Oculimacula* w testach inokulacyjnych polowych i brak bądź znikome porażenie stadium siewki.
- Biorąc pod uwagę średni plon genotypów posiadających geny odporności (zarówno w formie spiramidyzowanej, jak i pojedynczej), można wnioskować, że w odpornych genotypach nie przeniesiono cech mających wpływ na redukcję plonu.