

# **Występowanie *Puccinia graminis* na pszenicy i pszenżycie, jego zróżnicowanie oraz poszukiwanie fenotypowych, molekularnych i metabolicznych markerów odporności na rdzę źdźbłową**

## **Zadanie nr 8**

**Okres realizacji zadania: 01.01.2023 – 31.12.2023 r.**

**Kierownik:** dr hab. inż. Grzegorz Lemańczyk  
e-mail: grzegorz.lemanczyk@pbs.edu.pl

**Zespół wykonawców:** dr hab. inż. Anna Baturo-Cieśniewska  
dr hab. inż. Dariusz Kulus  
dr inż. Aleksander Łukanowski  
dr inż. Natalia Miler

**Pomoc techniczna:** dr Karol Lisiecki  
dr inż. Sebastian Sendel

**Jednostka realizująca:** Politechnika Bydgoska

# Cele projektu w 2023 r.

**Cel główny badań:** Celem zadania jest określenie nasilenia występowania *Puccinia graminis* na pszenicy i pszenżyte w Polsce, stworzenie krajowej kolekcji izolatów tego patogena, zbadanie wrażliwości genotypów zbóż (odmian, rodów, linii hodowlanych) oraz poszukiwania markerów fenotypowych, molekularnych i metabolicznych do identyfikacji genów odporności na rdzę źdźbłowa zbóż i traw.

## Cele projektu dla poszczególnych tematów badawczych:

**Temat nr 1.** Celem jest określenie nasilenia występowania rdzy źdźbłowej w uprawach pszenicy i pszenżyta w Polsce.

Cel został zrealizowany

**Temat nr 2.** Celem jest utworzenie krajowej kolekcji izolatów *Puccinia graminis* przez pozyskanie zarodników letnich sprawcy rdzy źdźbłowej (uredospor).

Cel został zrealizowany

**Temat nr 3.** Celem jest określenie stopnia zróżnicowania genetycznego populacji *Puccinia graminis*.

Cel w trakcie realizacji

**Temat nr 4.** Celem jest oznaczenie zróżnicowania genetycznego badanych grup roślin (gatunków, odmian, rodów, linii), wskazanie najlepszego systemu markerowego do identyfikacji genotypów u badanych gatunków oraz wskazanie potencjalnych genetycznych markerów odporności wspomagających hodowlę opartą na markerach.

Cel w trakcie realizacji

**Temat nr 5.** Celem jest scharakteryzowanie genotypów pszenicy i pszenżyta (odmian, rodów hodowlanych) pod kątem wrażliwości na rdzę źdźbłową.

Cel w trakcie realizacji

**Temat nr 6.** Celem jest wytypowanie potencjalnych mechanizmów obronnych przeciw *P. graminis* wśród badanych roślin na podstawie obecności i aktywności markerów molekularnych.

Cel w trakcie realizacji



Rdza źdźbłowa na pszenicy



Rdza źdźbłowa na pszenżyte



# Temat badawczy 1: **Określenie nasilenia występowania rdzy żdźbłowej w uprawach pszenicy i pszenżyta w Polsce (2023 r.)**

## **Cel tematu badawczego:**

Celem tematu jest określenie nasilenia występowania rdzy żdźbłowej w uprawach pszenicy i pszenżyta w Polsce.



Lp.	miernik	wartość miernika planowana	wartość miernika zrealizowana
1	Liczba przebadanych pól (lub obiektów doświadczalnych)	50	50

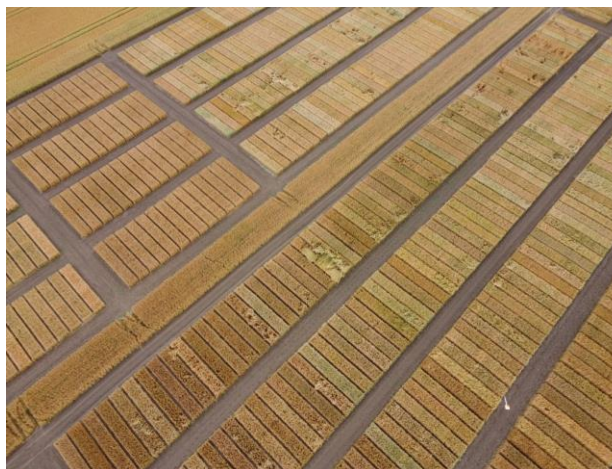
## **Realizacja badań:**

Oceniano nasilenie występowania objawów rdzy żdźbłowej zbóż i traw na pszenicy i pszenżycie na polach produkcyjnych oraz poletkach doświadczalnych należących głównie do Centralnego Ośrodka Badania Odmian Roślin Uprawnych zlokalizowanych w różnych rejonach Polski, reprezentujących powierzchnię całego kraju i poszczególnych województw. Ocenę wykonywano również w stacjach doświadczalnych firm hodowlanych. Ponadto oceniano choroby na polach produkcyjnych pszenicy i pszenżyta. Ocenę wykonano w lipcu, pod koniec okresu wegetacyjnego. Objawy porażenia potwierdzano w warunkach laboratoryjnych.

### **Obserwacje na polach produkcyjnych pszenicy i pszenżyta**



### **Obserwacje w Stacjach Doświadczalnych Oceny Odmian COBORU**



### **Obserwacje na poletkach doświadczalnych firm hodowlanych**

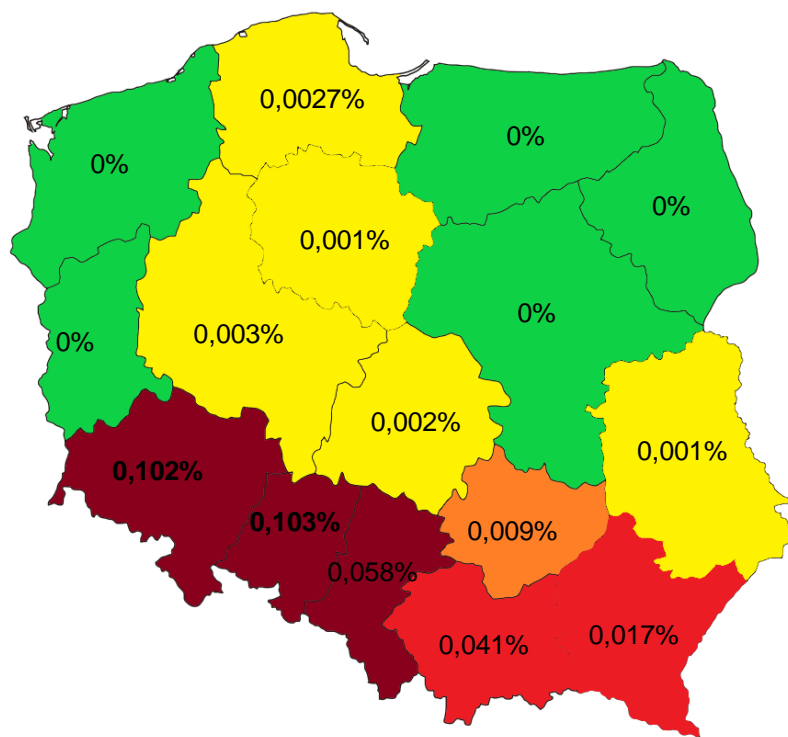




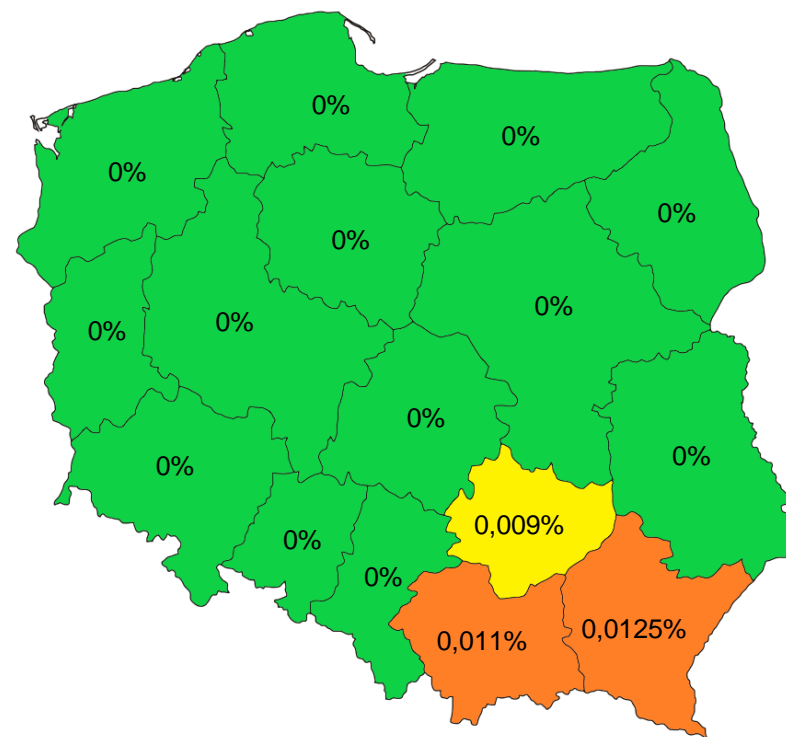
# Temat badawczy 1: **Określenie nasilenia występowania rdzy źdźbłowej w uprawach pszenicy i pszenżyta w Polsce c.d.**

## **Nasilenie występowanie objawów rdzy źdźbłowej zbóż i traw w Polsce w 2023 roku – procent źdźbeł z objawami choroby**

### Na pszenicy



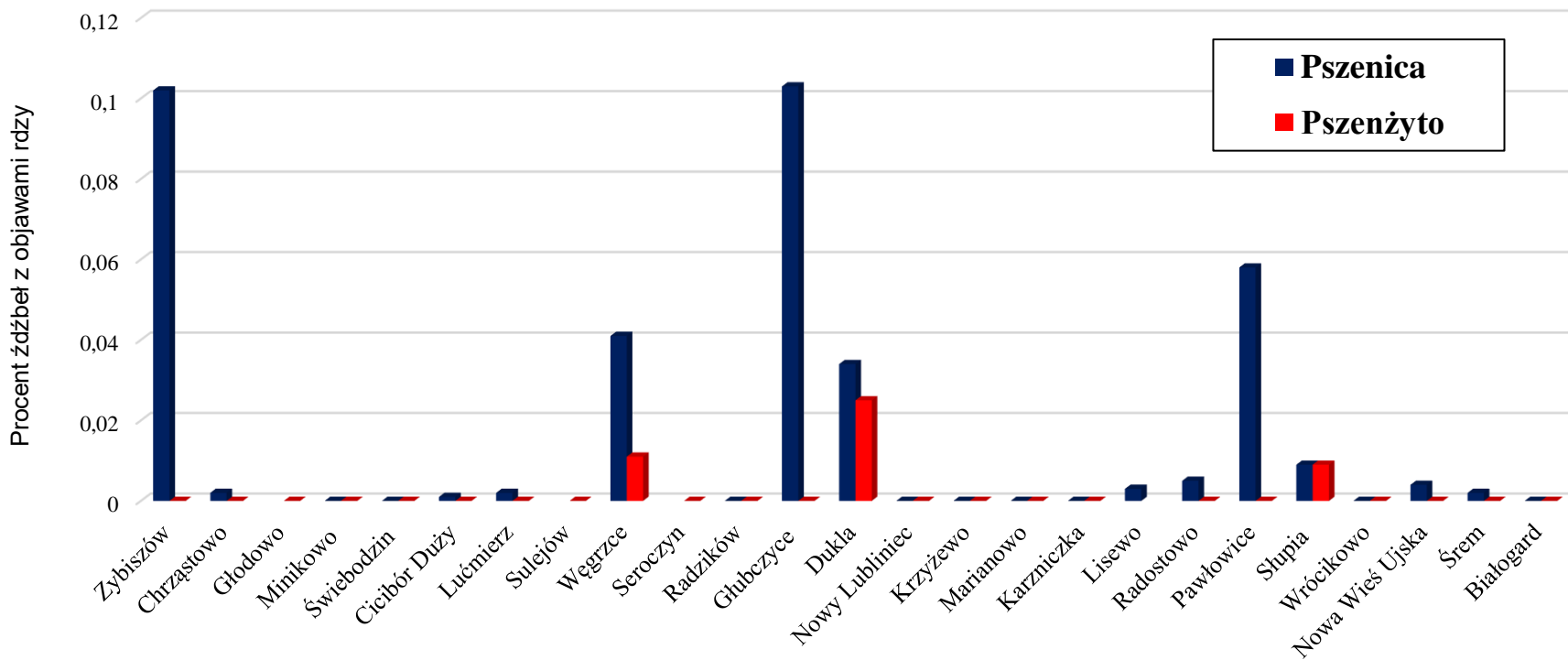
### Na pszenżyście





# Temat badawczy 1: **Określenie nasilenia występowania rdzy źdźbłowej w uprawach pszenicy i pszenżyta w Polsce c.d.**

## Występowanie rdzy źdźbłowej na pszenicy i pszenżycie w Polsce w 2023 roku







## Temat badawczy 2: **Utworzenie krajowej kolekcji izolatów *Puccinia graminis***

### **Cel tematu badawczego:**

Celem tematu jest utworzenie krajowej kolekcji izolatów *Puccinia graminis* przez pozyskanie zarodników letnich sprawcy rdzy żdźbłowej (uredospor).

Cel został zrealizowany

### **Realizacja badań:**

W trakcie wykonywania ocen nasilenia występowania objawów rdzy żdźbłowej w różnych rejonach Polski pobierano próbki, na które składały się fragmenty żdźbeł roślin pszenicy, pszenżyta a także żyta z objawami tej choroby. Próbki te pobierano z odmianowych poletek doświadczalnych, zlokalizowanych w różnych rejonach Polski. W laboratorium była potwierdzana przynależność gatunkowa zebranych izolatów, a następnie ich zarodniki zostały przeniesione do probówek typu Eppendorf i umieszczone w temperaturze  $-75^{\circ}\text{C}$ .

W trakcie prowadzonych badań pozyskano 72 próbek żdźbeł z objawami rdzy żdźbłowej (głównie z pszenicy, sporadycznie z pszenżyta). Na żdźbłach przeważnie występowały pojedyncze uredinia. Ze względu na małą liczbę urediniów na żdźbłach nie można był pozyskać większej liczby uredospor do namnażania grzyba. Spośród wszystkich próbek do dalszych badań wybrano 40 izolatów *P. graminis*.

Próbki fragmentów żdźbeł z uredosporami *P. graminis* zebrane z różnych lokalizacji



Liść z urediniami *P. graminis*





## Temat badawczy 2: **Utworzenie kolekcji izolatów *Puccinia graminis***

### **Cel tematu badawczego:**

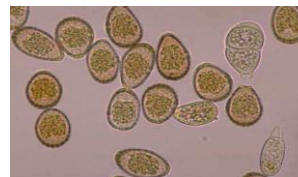
Celem tematu jest utworzenie krajowej kolekcji izolatów *P. graminis* przez pozyskanie zarodników letnich sprawcy rdzy żdźbłowej.

Lp.	miernik	wartość miernika planowana	wartość miernika zrealizowana
1	Liczba uzyskanych genotypów <i>P. graminis</i>	40	40

### **Realizacja badań:**

W trakcie wykonywania ocen nasilenia występowania objawów rdzy żdźbłowej w różnych rejonach Polski pobierano próbki, na które składały się fragmenty żdźbeł roślin pszenicy, pszenżyta a także żyta z objawami choroby. Próbki te pobierano z odmianowych poletok doświadczalnych, zlokalizowanych w różnych rejonach Polski. W laboratorium potwierdzano przynależność gatunkową zebranych izolatów, a następnie ich zarodniki zostały przeniesione do probówek typu Eppendorf i umieszczone w temperaturze  $-75^{\circ}\text{C}$ .

W trakcie prowadzonych badań pozyskano 72 próbek żdźbeł z objawami rdzy żdźbłowej (głównie z pszenicy, sporadycznie z pszenżyta). Na żdźbełach przeważnie występowały pojedyncze uredinia. Ze względu na małą liczbę uredyniów na żdźbełach nie można było pozyskać większej liczby uredospor do namnażania grzyba. Spośród wszystkich próbek do dalszych badań wybrano 40 izolatów *P. graminis*.





# Temat badawczy 3: **Badania zróżnicowania populacji *Puccinia graminis***

## Cel tematu badawczego:

Celem tematu jest określenie stopnia zróżnicowania genetycznego populacji *P. graminis*.

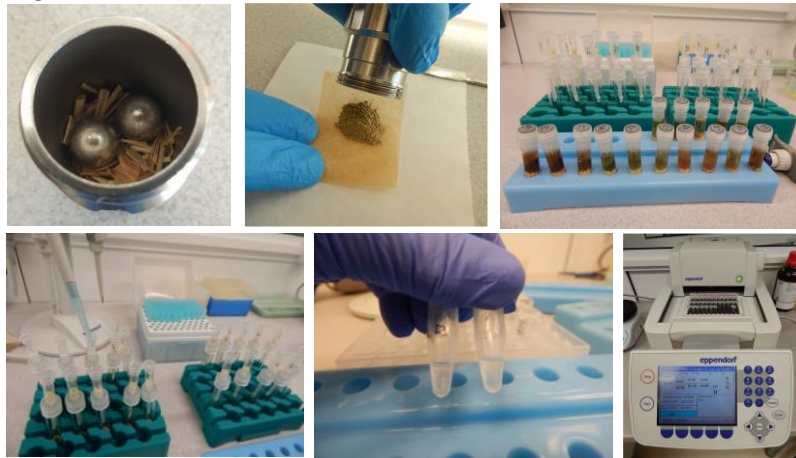
Cel w trakcie realizacji

Lp.	miernik	wartość miernika planowana	wartość miernika zrealizowana
1	Liczba przebadanych genotypów <i>P. graminis</i> pod kątem zróżnicowania genetycznego	40	W toku
2	Liczba przebadanych genotypów <i>P. graminis</i> pod kątem patogeniczności	40	40

## Realizacja badań:

### Weryfikacja zróżnicowania genetycznego izolatów *P. graminis*

Przeprowadzono analizy, dla potwierdzenia identyfikacji grzyba rdzawnikowego zdiagnozowanego jako *P. graminis*, przy pomocy analizy sekwencji regionów ITS (internal transcribed spacer) i LSU (large subunit) oraz określono jego zróżnicowania genetycznego (porównanie próbek oraz sekwencji zdeponowanych w GenBank NCBI).



### Testowane startery:

- **LRust1R/LR6** (amplifikujące region LSU),
- **ITS5-u/ITS4-u** (amplifikujące regiony ITS).

- OP926045 - Polska Triticum aestivum
- OP926909 - Polska Secale cereale
- OP926907 - Polska Secale cereale
- OP926044 - Polska Triticum aestivum
- OP926906 - Polska Triticum aestivum
- OP926904 - Polska Triticum aestivum
- OP926046 - Polska Triticum aestivum
- OP926902 - Polska Triticum aestivum
- OP926903 - Polska Triticum aestivum
- MT965637 - Wielka Brytania Festuca ovina
- MT965648 - Wielka Brytania Dactylis glomerata
- MT965559 - Węgry Lolium perenne
- MK952783 - Chiny Dactylis glomerata
- MK952782 - Chiny Fagopyrum dibotrys
- KY798400 - USA Festuca sp.
- KY798389 - USA Poa annua
- AF522177 - USA żywiec nieznan
- KY764124 - USA Triticum aestivum
- KM249852 - Australia Glyceria maxima
- HQ412648 - Oman Hordeum sp.
- Pg302Sc22 - Koscian Maly WP Secale cereale
- Pg311Sc22 - Swiebodzin LS Secale cereale
- Pg319Sc22 - Kaweczyn WP Secale cereale
- Pg348Sc22 - Wroclkowo WM Secale cereale
- Pg359Sc22 - Ruska Wies WM Secale cereale
- Pg62Ta22 - Lisewo KP Triticum aestivum
- Pg304Ta22 - Karzniczka P Triticum aestivum
- Pg705Ta23 - Bialogard ZP Triticum aestivum
- KY798370 - USA Elymus semicostatus

I  
0,0010

## Patogenicności izolatów *P. graminis* dla roślin pszenicy i pszenżyta (średni stopień porażenia)

Lp.	Izolat <i>P. graminis</i>	Pszenica	Pszenżyto
1	Pg 607	0	0
2	Pg 608	0	0
3	Pg 609	0	0,25
4	Pg 610	0	0
5	Pg 612	0,05	0
6	Pg 613	0	0
7	Pg 615	0	0
8	Pg 616	0	0
9	Pg 618	0	0
10	Pg 619	0,25	0,05
11	Pg 620	0	0
12	Pg 621	0	0
13	Pg 623	0,05	0
14	Pg 624	0	0
15	Pg 626	0	0
16	Pg 627	0	0
17	Pg 629	0	0
18	Pg 632	0,50	0,05
19	Pg 633	0	0
20	Pg 635	0	0
21	Pg 638	0	0
22	Pg 639	0	0
23	Pg 640	0,01	0
24	Pg 642	0	0
25	Pg 644	0	0
26	Pg 648	0	0
27	Pg 650	0	0
28	Pg 655	0	0
29	Pg 656	0	0
30	Pg 658	0	0
31	Pg 659	2,15	0,35
32	Pg 660	0	0,10
33	Pg 661	0,10	0
34	Pg 663	0	0
35	Pg 664	1,10	0,05
36	Pg 665	0	0
37	Pg 667	0	0
38	Pg 668	0,25	0,05
39	Pg 670	2,05	0,55
40	Pg 671	1,40	0

## Badania patogeniczności izolatów *P. graminis*

Badania te prowadzono w warunkach szklarniowych na pszenicy cv SY Dubaj oraz pszenżycie cv SU Tadeus. Ocenę nasilenia objawów chorobowych przeprowadzono po 2 tygodniach od inokulacji.





# Temat badawczy 4: Poszukiwanie markerów molekularnych do identyfikacji genów odporności zbóż na *Puccinia graminis*

## Cel tematu badawczego:

Celem tematu jest oznaczenie zróżnicowania genetycznego badanych grup roślin (gatunków, odmian, rodów, linii), wskazanie najlepszego systemu markerowego do identyfikacji genotypów u badanych gatunków oraz wskazanie potencjalnych genetycznych markerów odporności wspomagających hodowlę opartą na markerach (marker-assisted breeding).  
Cel w trakcie realizacji

Lp.	miernik	wartość miernika planowana	wartość miernika zrealizowana
1	Liczba genotypów pszenicy, na bazie których przeprowadzi się analizę metodą markerów molekularnych	10	W toku
2	Liczba genotypów pszenżyta, na bazie których przeprowadzi się analizę metodą markerów molekularnych	10	W toku

## Realizacja badań:

Badanych jest 10 genotypów pszenicy i 10 pszenżyta. Badanie zróżnicowania genetycznego genotypów pszenicy i pszenżyta oparto na trzech systemach markerowych:  
 - SCoT (Start Codon Targeted),  
 - RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA)  
 - ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat).  
 Z bazy maswheat.ucdavic.edu wybrano 10 markerów genów odporności.

### Wykaz badanych genotypów pszenicy i pszenżyta

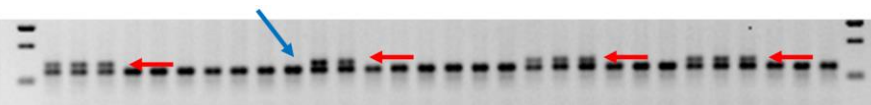
Lp.	Genotypy pszenicy	Genotypy pszenżyta
1	AND-20610	DC 16236
2	C20 739-5	DD 591/20
3	DL 746/20	DL 598/20
4	Genotyp1	DL 652/20
5	Genotyp10	DS.3531/20
6	KBP 22.29	DWLL 17
7	Mandaryna	DWLL 19
8	MIB 1412	DWLL 20
9	NAD 20708	DWLL 22
10	POB 0823	DWLL 24

### Badane geny i markery odporności na rdzę

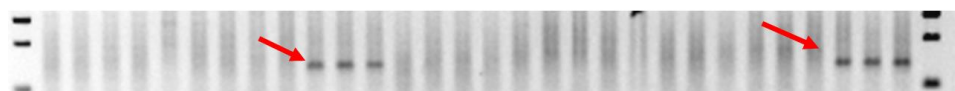
Gen	Marker
Sr22	WMC633
Sr24	Sr24#12
Sr28	wmc332
Sr32	csSr32#1
Sr35	NL9
Sr39	Sr39#22r
Sr45	cssu45
Sr49	sun479
Sr56	sun32o
Sr57	csLV34

## Obraz elektroforetycznego rozdziału produktów PCR dla genu

Sr28



Sr56





# Temat badawczy 5: Wrażliwość genotypów pszenicy i pszenżyta na *P. graminis*

## Cel tematu badawczego:

Celem tematu badawczego jest scharakteryzowanie genotypów pszenicy i pszenżyta (odmian, rodów hodowlanych) pod kątem wrażliwości na rdzę żdźbłąwą. Cel w trakcie realizacji

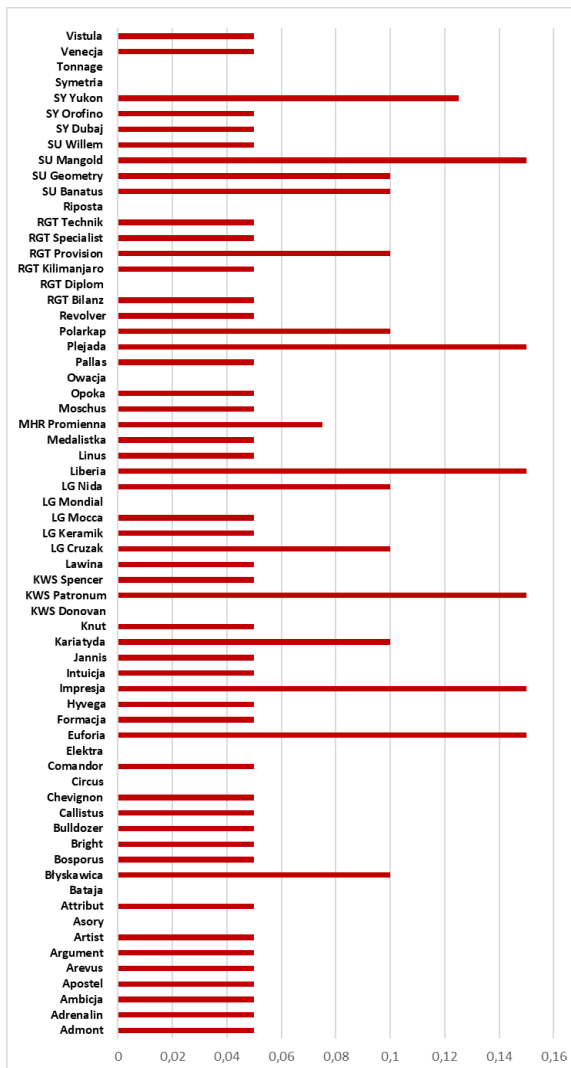
Lp.	Liczba testowanych genotypów pszenicy w teście polowym	wartość miernika planowana	wartość miernika zrealizowana
1	Liczba testowanych genotypów pszenicy w teście polowym	80	80
2	Liczba testowanych genotypów pszenżyta w teście polowym	40	40
3	Liczba testowanych genotypów pszenicy w teście polowym na mikropoletkach	80	80
4	Liczba testowanych genotypów pszenżyta w teście polowym na mikropoletkach	40	40
5	Liczba testowanych genotypów pszenicy w teście laboratoryjnym	80	W toku
6	Liczba testowanych genotypów pszenżyta w teście laboratoryjnym	40	W toku

## Realizacja badań:

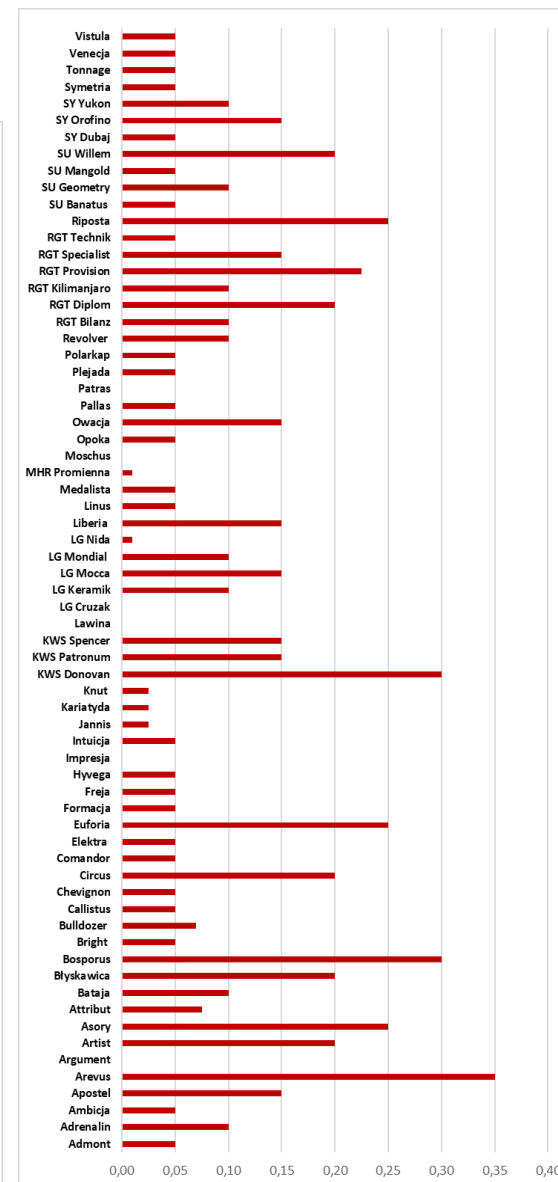
Badania wrażliwości genotypów pszenicy i pszenżyta badano na poletkach Stacji Doświadczalnych Oceny Odmian COBORU, Rolniczym Zakładzie Doświadczalnym PBŚ oraz w warunkach szklarniowych, określając nasilenie rdzy żdźbłowej jako % żdźbeł z objawami chorobowymi lub stopień porażenia



Nasilenie rdzy żdźbłowej na genotypach pszenicy w Stacji Doświadczalnej Oceny Odmian w Pawłowicach



Nasilenie rdzy żdźbłowej na genotypach pszenicy w Stacji Doświadczalnej Oceny Odmian w Zybizowie





# Temat badawczy 5: Wrażliwość genotypów pszenicy i pszenżyta na *P. graminis* c.d.

## Nasilenie objawów rdzy żdźbłowej na genotypach uprawianych na mikropoletkach (Minikowo)

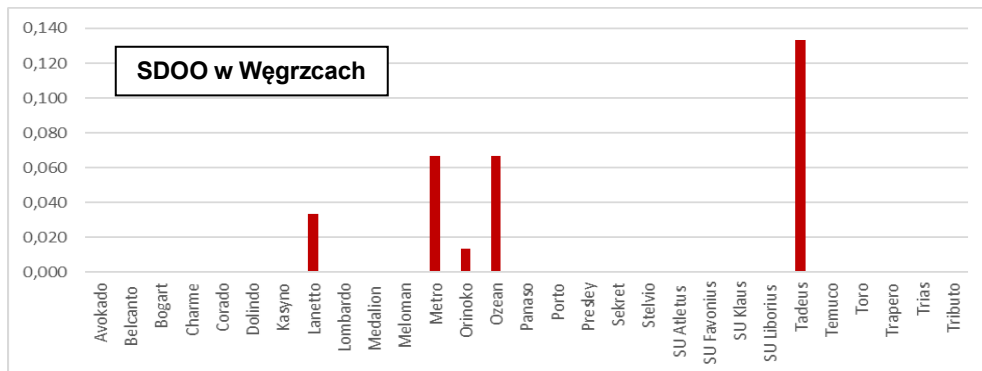
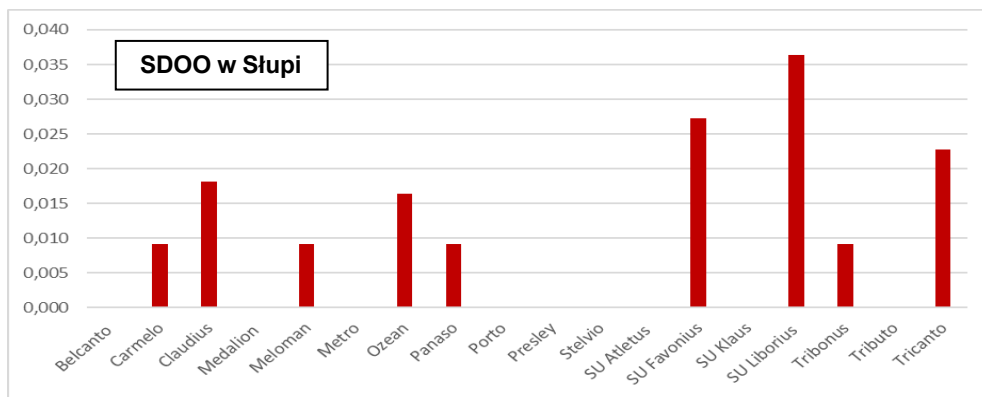
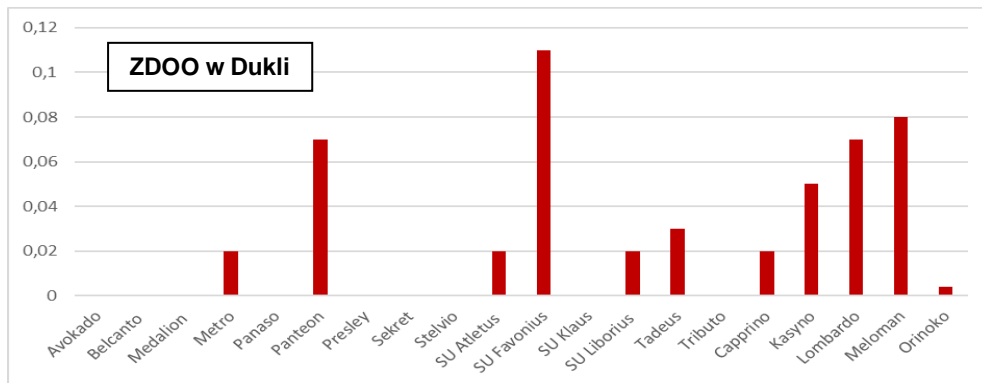
### Pszenica

Lp.	Genotyp	%	Lp.	Genotyp	%
1	AND 19057	0	41	Genotyp9	0
2	AND 191004	0	42	KBP 21.10	0
3	AND 19249	0	43	KBP 21.16	0
4	AND 19337	0	44	KBP 21.20	0
5	AND 19569	3,0	45	KBP 21.33	2,0
6	AND 19791	0	46	KBP 21.47	0
7	AND 19797	0	47	KBP 21.56	0
8	AND 19829	0	48	MIB 01007	0
9	Arkadia	0	49	MIB 01152	0
10	C19_573	0	50	MIB 0245	0
11	C2738/14-14	1,5	51	MIB 0534	0,5
12	C2815/15-21	0	52	MIB 1156	0
13	C3279/16-1	0	53	NADZ:19040	2,0
14	D/2/38	0	54	NADZ:191004	0
15	DC16_246	0	55	NADZ:19110	0
16	DD 198/19	0	56	NADZ:19377	0
17	DD 470/19	0,5	57	NADZ:19565	0,5
18	DD 561/19	0	58	NADZ:19581	0
19	DD 868/19	0	59	NADZ:19628	0
20	DD 910/19	1,0	60	NADZ:19796	0
21	DL 1091/19	0	61	POB 0122	0,5
22	DL 1175/19	0	62	POB 0322	0
23	DL 1278/19	0	63	POB 0422	0,5
24	DL 1410/19	0	64	POB 0522	0
25	DL 1552/19	0	65	POB 0622	0,5
26	Genotyp10	0,5	66	SMH 497	0
27	Genotyp11	0	67	SMH 520	0
28	Genotyp12	0,5	68	SMH 524	1,0
29	Genotyp14	0	69	SMH 574	0
30	Genotyp15	0,5	70	SMH 578	0
31	Genotyp16	0	71	SMH 592	0,5
32	Genotyp18	0	72	SMH 633	0
33	Genotyp19	0	73	SMH 643	0
34	Genotyp2	0	74	SMH 652	0
35	Genotyp20	0	75	SMH 754	0
36	Genotyp3	0	76	SMH 761	0
37	Genotyp4	0	77	SMH 796	2,0
38	Genotyp6	0,5	78	SMH 816	0
39	Genotyp7	0	79	SMH 839	0
40	Genotyp8	0	80	SMH 840	0

### Pszenżyto

Lp.	Genotyp	%
1	Corado	1,0
2	DC 15112	0
3	DC 16178-1	0
4	DC 16267-74	0
5	DC 83/15	0
6	DD 19/19	0
7	DD 321/19	0
8	DD 538/19	0
9	DL 1015/19	0
10	DL 1077/19	0
11	DL 213/19	0
12	DL 246/19	1,0
13	DL 251/19	0
14	DL 373/19	0
15	DL 379/19	2,0
16	DL 453/19	0
17	DL 545/19	0,5
18	DL 824/19	0
19	DS. 2574/20	0
20	DS. 2599/20	1,0
21	DS. 2618-2/20	0
22	DS. 2682/20	0
23	DS. 3432/20	0
24	Lombardo	0
25	MAH 36642-3	0
26	Meloman	0
27	Metro	0
28	Mondeo	0,5
29	Octavio	0
30	Panaso	0,5
31	Probus	0
32	Rotondo	0,5
33	Sekret	0
34	Sekret	0
35	Stelvio	0,5
36	SU Atletus	0
37	SU LIBORIUS	0,5
38	SU Tadeus	1,5
39	SY Cappricia	0
40	Tributo	0

## Nasilenie rdzy żdźbłowej w zależności od genotypu pszenżyta uprawianego w Stacjach Doświadczalnych Oceny Odmian COBORU



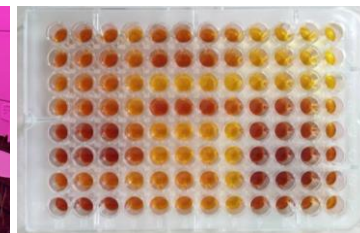


# Temat badawczy 6: Poszukiwanie markerów metabolicznych wpływających na odporność zbóż na *Puccinia graminis*

## Cel tematu badawczego:

Wytypowanie potencjalnych mechanizmów obronnych przeciw *P. graminis* wśród badanych roślin na podstawie obecności i aktywności markerów metabolicznych.

Lp.	Liczba przebadanych genotypów pszenicy	wartość miernika planowana	wartość miernika zrealizowana
1	Liczba przebadanych genotypów pszenicy	10	10
2	Liczba przebadanych genotypów pszenżyta	10	W toku
3	Liczba przebadanych markerów	6	6

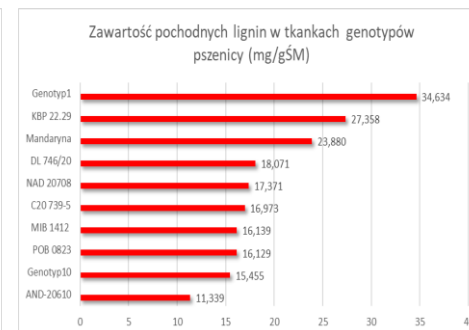
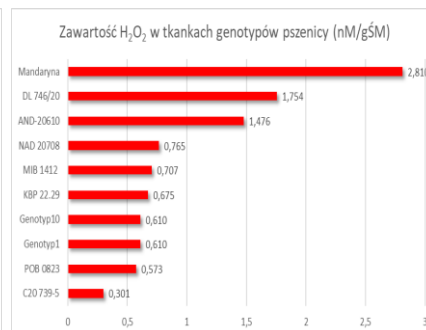
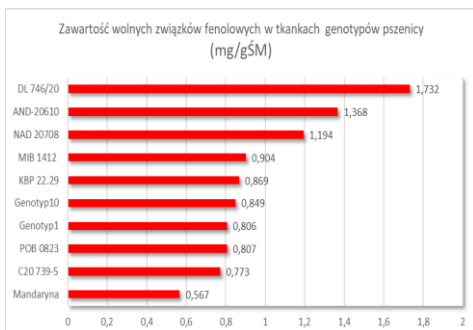
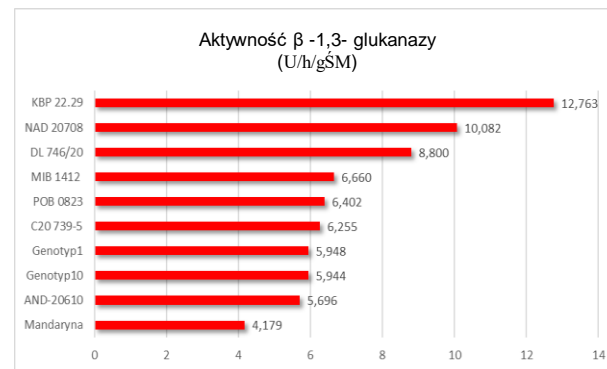
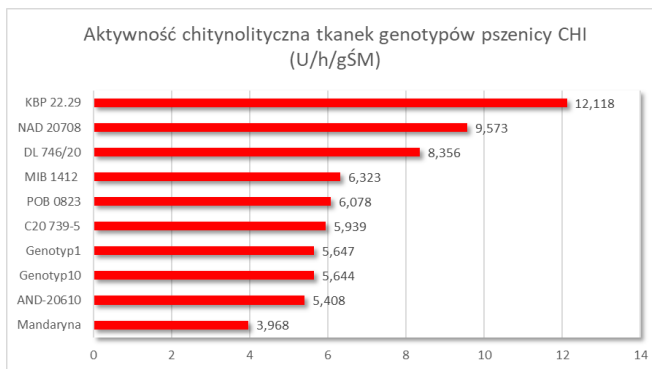


## Realizacja badań:

Przebadano po 10 genotypów pszenicy

## Przebadane markery metaboliczne:

- analiza aktywności chitynazy
- analiza aktywności  $\beta$ -1,3-glukanazy
- zawartość wolnych zw. fenolowych
- zawartość wolnych cukrów
- analiza zawartości  $H_2O_2$
- analiza stopnia lignifikacji tkanek



- Największą aktywnością chitynaz charakteryzował się genotyp KBP 22.29, następnie NAD 20708 i DL 746/20, natomiast najmniejszą cv Mandaryna.
- Największą aktywnością  $\beta$ -1,3- glukanazy charakteryzowały się genotypy KBP 22.29, NAD 20708 oraz DL 746/20, a najniższą cv Mandaryna.
- Największą zawartością wolnych związków fenolowych w tkankach charakteryzował się DL 746/20, następnie AND-20610, i NAD 20708, a najmniejszą cv Mandaryna.
- Największą ilość wolnych cukrów stwierdzono w tkankach genotypu AND-20610, kolejno Genotyp 1 oraz DL 746/20, natomiast najmniejszą w tkankach POB 0823.
- Największą zawartością wolnego  $H_2O_2$  w tkankach roślin charakteryzowała się cv Mandaryna, kolejno DL 746/20 i AND 20610, natomiast najmniejsza C20 739-5.
- Do roślin pszenicy o najsilniejszym stopniu lignifikacji należał Genotyp 1, następnie KBP 22.29 i Mandaryna, a najsłabszym AND-20610.