

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

## **Zadanie nr 8**

|                                |  |
|--------------------------------|--|
| <b>Jednostka realizująca:</b>  | <b>Politechnika Bydgoska</b>   |
| <b>Kierownik:</b>              | <b>dr hab. Grzegorz Lemańczyk</b><br>(e-mail: <a href="mailto:grzegorz.lemanczyk@pbs.edu.pl">grzegorz.lemanczyk@pbs.edu.pl</a> ) |
| <b>Wykonawcy:</b>              | <b>dr Anna Baturo-Cieśniewska</b><br><b>dr Dariusz Kulus</b><br><b>dr Aleksander Łukanowski</b><br><b>dr Natalia Miler</b>       |
| <b>Pomoc techniczna:</b>       | <b>mgr Karol Lisiecki</b><br><b>dr Sebastian Sendel</b>  |
| <b>Rok realizacji zadania:</b> | <b>2021</b>  |



# Cel badań

Celem zadania jest określenie nasilenia występowania *Puccinia graminis* na pszenicy i pszenżycie 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 żdźbłowa zbóż i traw.

## Realizowane tematy badawcze:

1. Określenie nasilenia występowania rdzy żdźbłowej w uprawach pszenicy i pszenżyta w Polsce.
2. Utworzenie krajowej kolekcji izolatów *Puccinia graminis*.
3. Badania zróżnicowania populacji *Puccinia graminis*.
4. Poszukiwanie markerów molekularnych do identyfikacji genów odporności zbóż na *Puccinia graminis*.
5. Wrażliwość genotypów pszenicy i pszenżyta na *Puccinia graminis*.
6. Poszukiwanie markerów metabolicznych wpływających na odporność zbóż na *Puccinia graminis*.



Rdza żdźbłowa na pszenicy



Rdza żdźbłowa na pszenżycie



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

## **Cel tematu badawczego:**

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

## **Realizacja badań:**

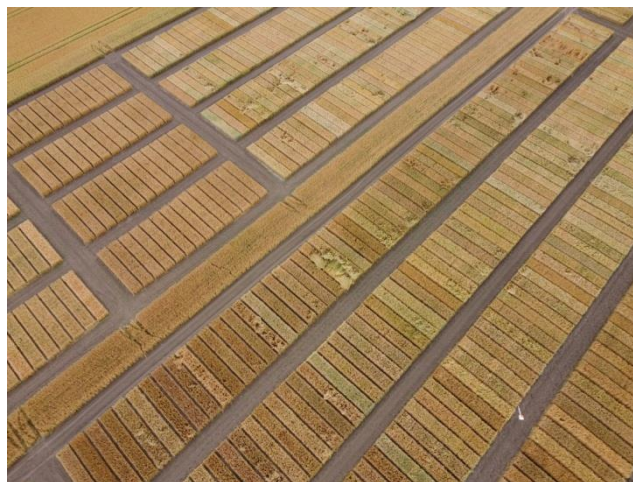
Oceniano nasilenie występowania objawów rdzy źdźbłowej zbóż i traw na pszenicy i pszenżycie na polach produkcyjnych oraz poletkach doświadczalnych należących głównie do Centralnego Ośrodka Badania Odmian Roślin Uprawnych zlokalizowanych w różnych rejonach Polski, reprezentujących powierzchnię kraju i 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.



**Polach produkcyjnych  
pszenicy i pszenżyta**



**Stacjach Doświadczalnych Oceny  
Odmian COBORU**



**Stacjach doświadczalnych firm  
hodowlanych**

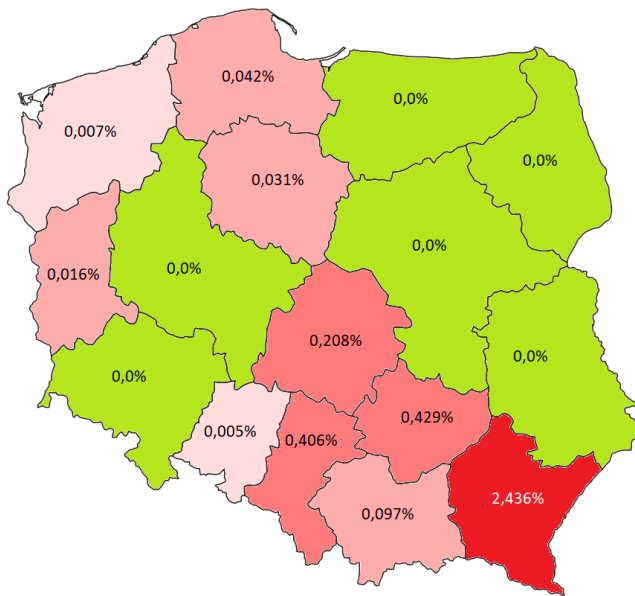




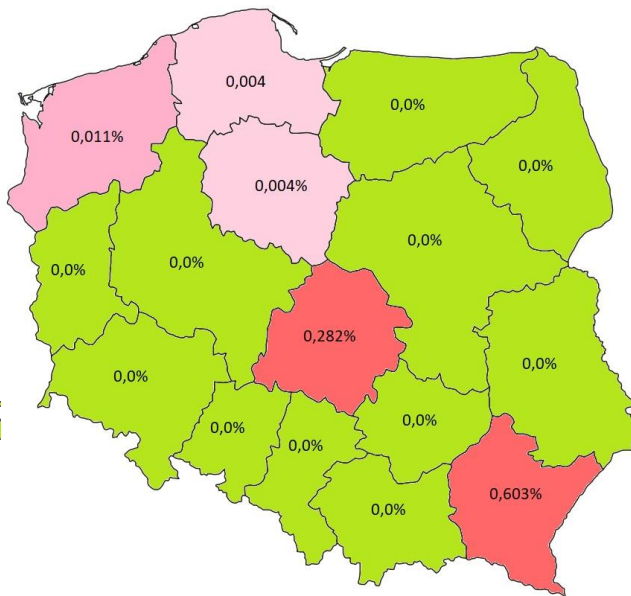
# Temat badawczy 1: **Określenie nasilenia występowania rdzy źdźbłowej w uprawach pszenicy i pszenżyta w Polsce**

## **Nasilenie występowanie objawów rdzy źdźbłowej w Polsce – procent źdźbeł z objawami choroby**

**W stacjach doświadczalnych  
– na pszenicy ozimej**



**W stacjach doświadczalnych  
– na pszenicye ozimym**



**Polach produkcyjnych  
pszenicy i pszenżyta**





## 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 źdźbłowej (uredospor).

### **Realizacja badań:**

Podczas wykonywania ocen nasilenia występowania rdzy źdźbłowej pobierano próbki, na które składały się fragmenty źdźbeł roślin pszenicy, pszenżyta a także żyta z objawami tej choroby. Próbki te pobierano z odmianowych poletok doświadczalnych COBORU i należących do firm hodowlanych, zlokalizowanych w różnych rejonach Polski. W laboratorium została potwierdzona 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 245 próbek źdźbeł z objawami rdzy źdźbłowej. Przeprowadzono selekcję i spośród nich wybrano 40 izolatów *P. graminis*.

Fragment źdźbła z urediniami *P. graminis* pobierany do laboratorium w celu stworzenia kolekcji izolatów



Fragmenty źdźbeł z uredosporami *P. graminis* zebrane z różnych lokalizacji





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

### **Cel tematu badawczego:**

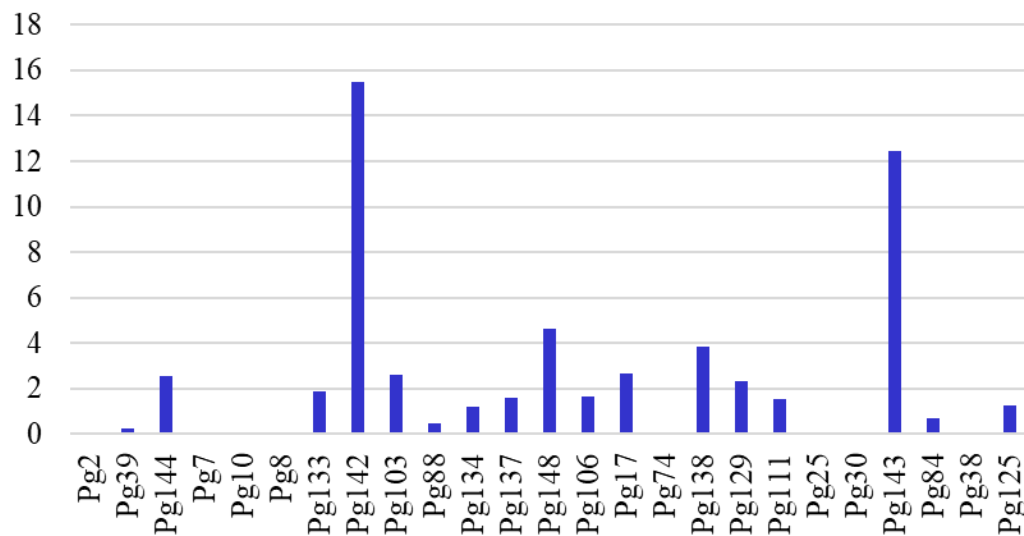
Celem tematu jest określenie stopnia zróżnicowania genetycznego populacji *Puccinia graminis*

### **Realizacja badań:**

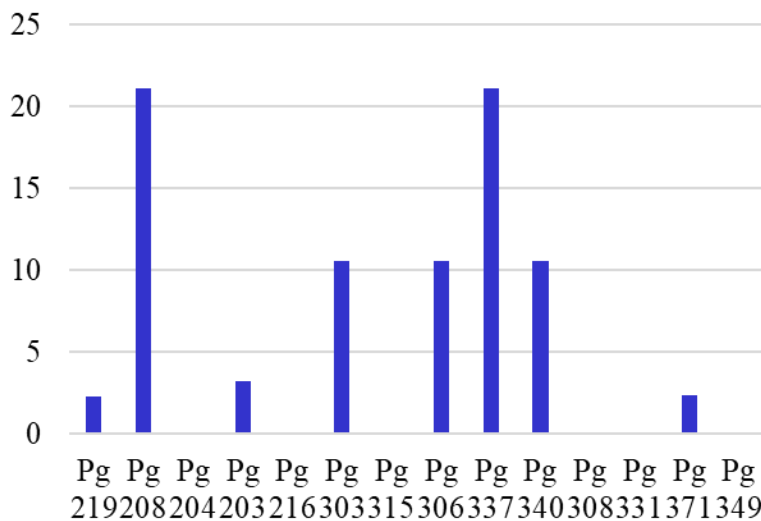
Testowanie patogeniczności/wirulencji izolatów *P. graminis* przeprowadzono w warunkach szklarniowych, na roślinach pszenicy i pszenżyta, na odmianach wykazujących podatność na rdzę żdźbłową zaobserwowaną w trakcie prowadzenia obserwacji polowych, tj. odpowiednio SY Dubaj oraz SU Tadeus. Przebadano 40 izolatów *P. graminis* pozyskanych w ramach tworzonej kolekcji. Inokulację przeprowadzano poprzez nanoszenie atomizerem na powierzchnię roślin wspomnianej zawiesiny, według metodyki zaproponowanej przez Sørensen i in. (2017).



**Patogenicności izolatów *P. graminis* dla pszenicy ozimej**



**Patogenicności izolatów *P. graminis* dla pszenżyta**



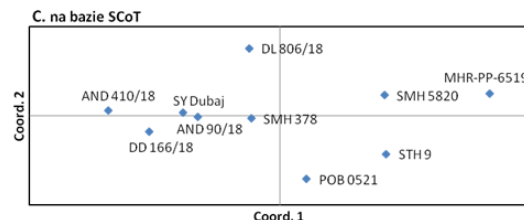
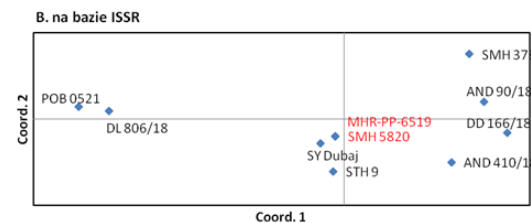
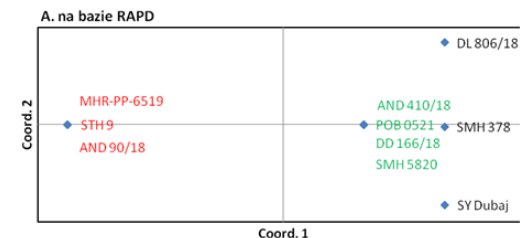


# Temat badawczy 4: Poszukiwanie markerów molekularnych do identyfikacji genów odporności zbóż na *Puccinia graminis*

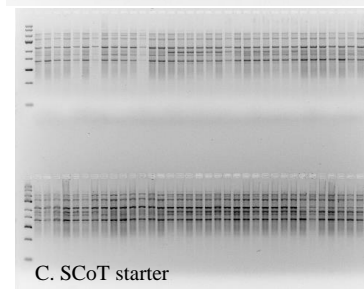
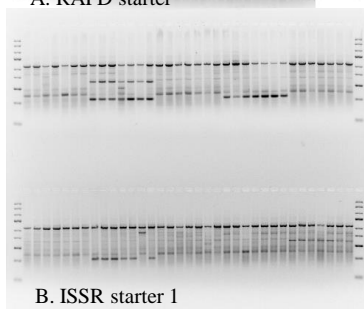
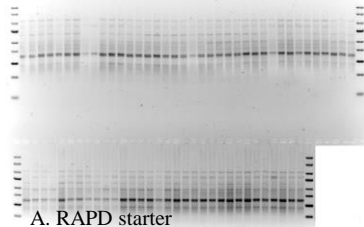
## Cel tematu badawczego:

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).

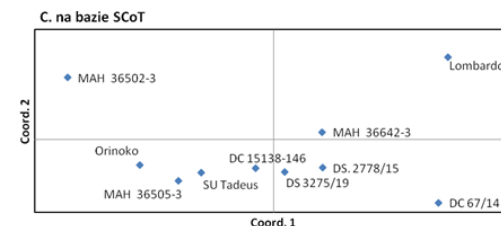
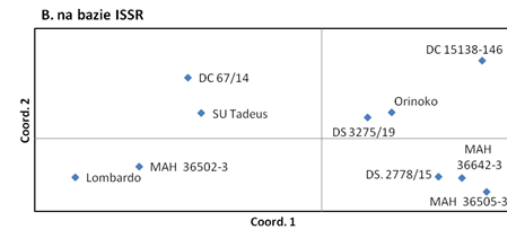
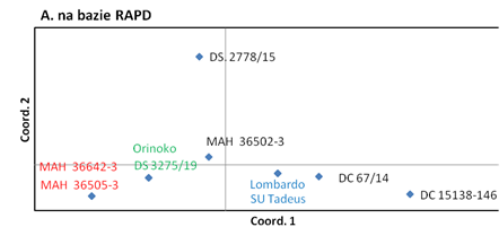
## Realizacja badań:



Analizy wielowymiarowe (PCoA) zmienności genetycznej pomiędzy badanymi genotypami pszenicy sporządzone na podstawie odległości euklidesowych wyliczonych na bazie markerów genetycznych RAPD (A), ISSR (B) oraz SCoT (C). Kolorem czerwonym i zielonym oznaczono genotypy, pomiędzy którymi nie stwierdzono różnic.



Przykładowe obrazy wzorów prążków DNA pszenicy uzyskane na żelu agarozowym po rozdzieleniu elektroforetycznym produktów PCR wykonanych zgodnie z założeniami danego systemu markerowego: RAPD (A), ISSR (B) oraz SCoT (C)



Analizy wielowymiarowe (PCoA) zmienności genetycznej pomiędzy badanymi genotypami pszenicy sporządzone na podstawie odległości euklidesowych wyliczonych na bazie markerów genetycznych RAPD (A), ISSR (B) oraz SCoT (C). Kolorem czerwonym, zielonym i niebieskim oznaczono genotypy, pomiędzy którymi nie występują różnice.



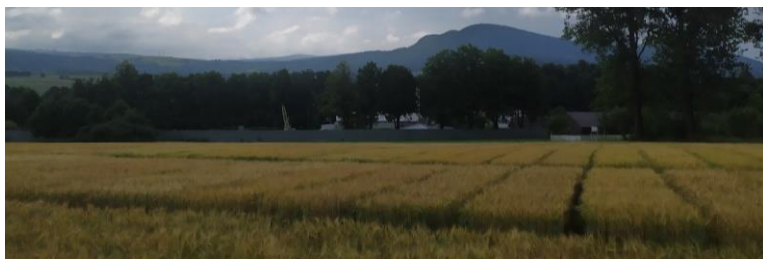
# Temat badawczy 5: Wrażliwość genotypów pszenicy i pszenżyta na *Puccinia graminis*

## Cel tematu badawczego:

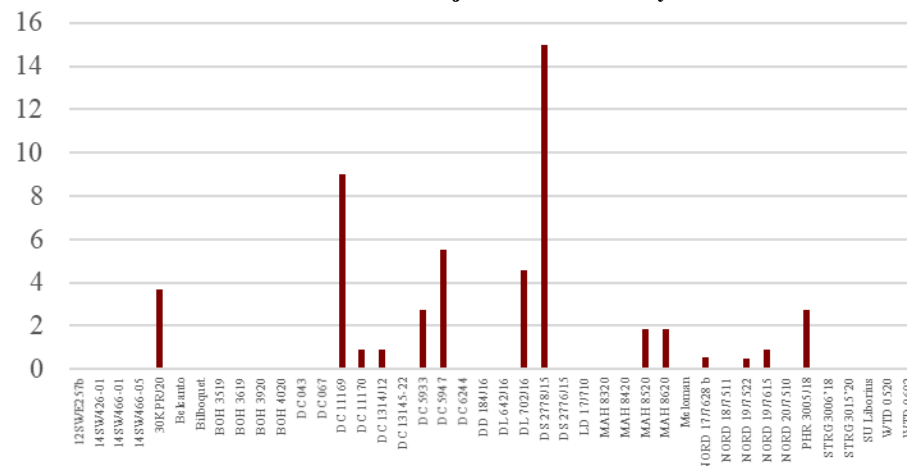
Celem tematu badawczego jest scharakteryzowanie genotypów pszenicy i pszenżyta (odmian, rodów hodowlanych) pod kątem wrażliwości na rdzę żółtobłąką.

## Realizacja badań:

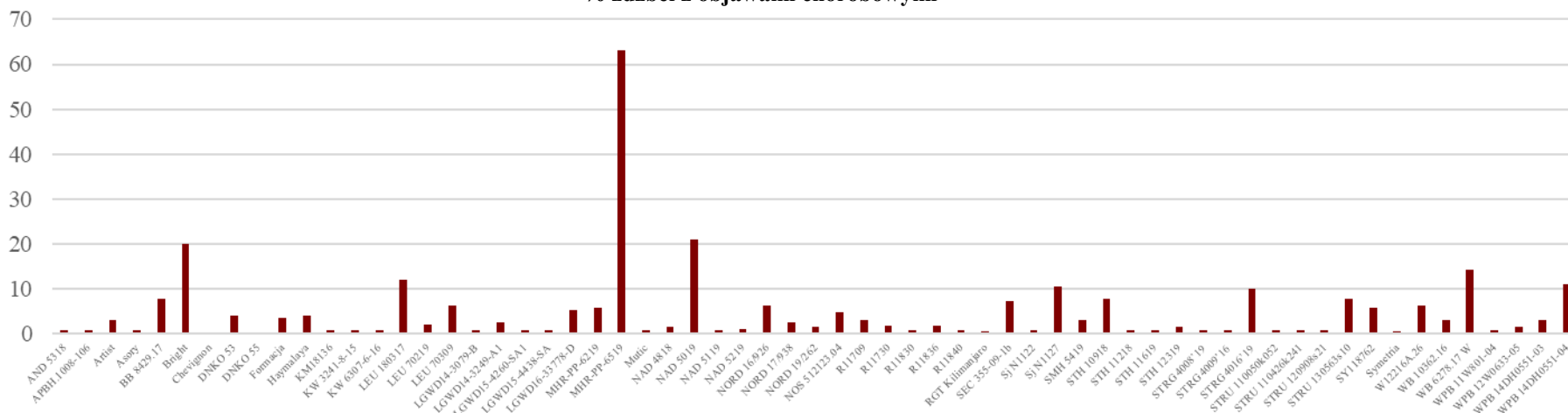
Zboża uprawiane w Zakładzie Doświadczalnym Oceny Odmian w Dukli



Nasilenie rdzy żółtobłąkiej w zależności od genotypu pszenżyta ozimego uprawianego w Zakładzie Doświadczalnym Oceny Odmian w Dukli - % źdźbeł z objawami chorobowymi



Nasilenie rdzy żółtobłąkiej w zależności od genotypu pszenicy ozimej uprawianej w Zakładzie Doświadczalnym Oceny Odmian w Dukli - % źdźbeł z objawami chorobowymi







## 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 molekularnych.

### **Realizacja badań:**

10 genotypów (odmian / rodów hodowlanych) reprezentujących każdy z badanych gatunków (pszenica, pszenżyto; łącznie 20 genotypów), badanych jest pod kątem występowania cech oporności.

Prowadzone są analizy dotyczące występowania metabolicznych markerów odporności. Oznaczana jest aktywność enzymów (białek PR) oraz zawartość wybranych związków organicznych biorących udział w odpowiedzi na infekcję *P. graminis*, t.j. takich defenzymów jak: chitynazy,  $\beta$ -1,3-glukanazy, jak również markery metaboliczne biorące czynny bezpośredni i pośredni udział w procesach obronnych. W ramach analiz biochemicznych i patofizjologicznych, dotyczących identyfikacji i wykorzystania metabolicznych markerów odporności na porażenie przez *P. graminis* prowadzone są następujące analizy:

- Analiza aktywności  $\beta$ -1,3-glukanaz oraz chitynaz (Zhang i in. 2013), jako wskaźnik potencjału zwalczania bezpośredniego infekcji powodowanych przez *P. graminis*.
- Analiza zawartości wolnych cukrów i stopnia zawartości skrobi (Maness 2010, Bacete i in. 2017), jako wskaźnik zapotrzebowania energetycznego tkanek roślin w przeciwdziałaniu infekcji *P. graminis*.
- Analiza zawartości wolnych związków fenolowych (Dragišić-Maksimovic i Živanović 2012), jako wskaźnik potencjału antyoksydacyjnego tkanek roślin jak również stopnia uwalniania/wiązania/wzmacniania struktury ściany komórkowej.
- Analiza zawartości  $H_2O_2$  w tkankach (Khakdan i in. 2016) wraz z barwieniem histochemicznym (Bach-Pages i Preston 2018), jako wskaźnik potencjału zwalczania bezpośredniego (cytotoksyczność) jak również pośredniego przez indukowanie kaskady procesów obronnych.

