

HALINA WIŚNIEWSKA¹

MACIEJ MAJKA¹

MAGDALENA GAWŁOWSKA¹

MAREK KORBAS²

JOLANTA BELTER¹

¹ Instytut Genetyki Roślin, Polska Akademia Nauk, Poznań

² Instytut Ochrony Roślin, Państwowy Instytut Badawczy, Poznań

Kierownik Tematu: prof. dr hab. Halina Wiśniewska Instytut Genetyki Roślin, Polska Akademia Nauk,
Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań, tel. 662044293, e-mail: hwis@igr.poznan.pl

Prace zostały wykonane w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi nr HOR.hn. 802.18.2018, Zadanie 2.

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

The use of molecular and phenotypic markers to identify genes of wheat resistance to eyespot caused by *Oculimacula yallunda* and *Oculimacula aciformis*

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. aciformis*. Szczególnie podczas łagodnych zim i chłodnych wiosen, na zewnętrznych pochwach liści pszenicy występują bursztynowo-brązowe plamy. W trakcie vegetacji 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 (Maia i in., 1967).

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” (Burt i in., 2014).

Cele badań w roku 2018:

- piramidyzacja genów odporności *Pch1* i *Pch2* na łamliwość źdźbła u pszenicy.
- Identyfikowanie w genotypach pszenicy ozimej obecności genu *Pch1* przy użyciu markera izoenzymatycznego w postaci endopeptydazy *EpD1b* oraz genów *Pch1* i *Pch2* przy użyciu markerów SSR,
- ocena porażenia siewek genotypów pszenicy (test w fitotronie) i dojrzałych źdźbeł (test polowy) po inokulacji zawiesiną grzybni i zarodników *O. yallundae* i *O. acufomis* oraz ocena naturalnego porażenia w lokalizacjach,
- 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 z genami *Pch1* i *Pch2* wyselekcjonowane we wcześniejszych badaniach oraz formy bez tych genów — **temat badawczy nr 1**. Materiał do identyfikacji 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*

W badaniach wykorzystano 5 markerów molekularnych (tab. 1). Wykazano obecność markerów *Pch1* i/lub *Pch2* w 25 genotypach pszenicy ozimej. U odmiany odpornej Rendezvous, a także w 5 badanych 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*. Geny te warunkują odporność pszenicy na grzyby patogeniczne z rodzaju *Oculimacula*, wywołujące chorobę zwaną łamliwością źdźbła (15,4% badanego materiału); 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*.

Tabela 1

Markery molekularne wykorzystane w badaniach

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

Temat badawczy 3

Testy inokulacyjne badanych genotypów pszenicy oraz obserwacje naturalnego porażenia genotypów przez *O. acuformis* i *O. yallundae* na poletkach doświadczalnych w kilku miejscach Polski.

Zbiór materiału roślinnego inokulowanego oraz analiza porażenia przez *O. acuformis* i *O. yallundae* w celu selekcji genotypów odpornych. Analiza korelacji między cechami fenotypowymi roślin a ich odpornością na łamliwość podstawy źdźbła.

Nie obserwowano naturalnego porażenia pszenicy w naturalnych warunkach. 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

1. Z kombinacji krzyżówkowych związanych z piramidyzacją u pszenicy genów *Pch1* i *Pch2* uzyskano 236 ziarniaków mieszańcowych — **temat badawczy 1**.
2. 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.**
3. U 49 genotypów pszenicy stwierdzono tylko gen *Pch2* — **temat badawczy nr 2.**
 4. Genotypy z genami *Pch1* i *Pch2* cechowały się najmniejszym porażeniem siewek — **temat badawczy nr 3.**
 5. Genotypy 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.**
 6. 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.**

LITERATURA:

- Burt C., Hollins T. W., Nicholas P. 2014. Identification of a QTL conferring seedling and adult plant resistance to eyespot on chromosome 5A of Cappelle Desprez. *Theor. Appl. Genet.* 122: 119 — 128.
- Maia N. 1967. Obtention de blés tendres résistants au piétin-verse (*Cercospora herpotrichoides*) par croisements interspécifiques. *es. CR Acad. Agric. Fr.* 52: 149 — 154.