

# **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](mailto: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 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.

## Cele projektu dla poszczególnych tematów badawczych:

**Temat nr 1.** Celem jest określenie nasilenia występowania rdzy żdźbłowej 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 żdźbłowej (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 żdźbłową.

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 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:**

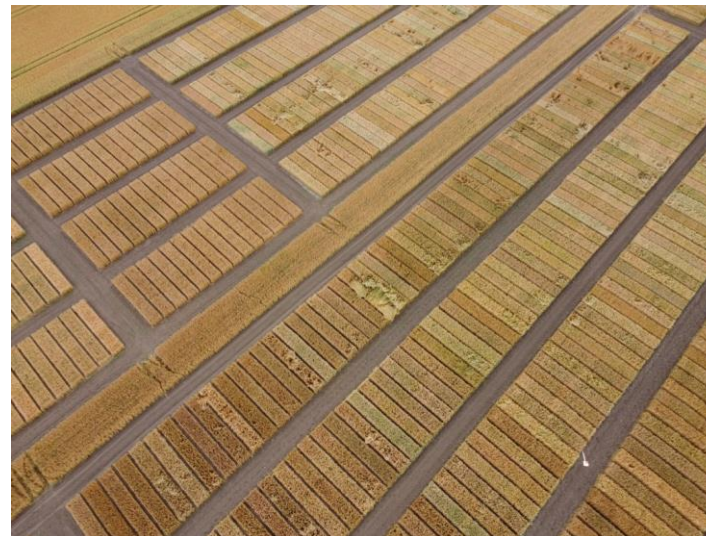
Oceniano nasilenie występowania objawów rdzy źdźbłowej zbóż i traw na pszenicy i pszenżycie na polach produkcyjnych oraz poletkach doświadczalnych należących do Centralnego Ośrodka Badania Odmian Roślin Uprawnych zlokalizowanych w różnych rejonach Polski, reprezentujących powierzchnię całego kraju i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

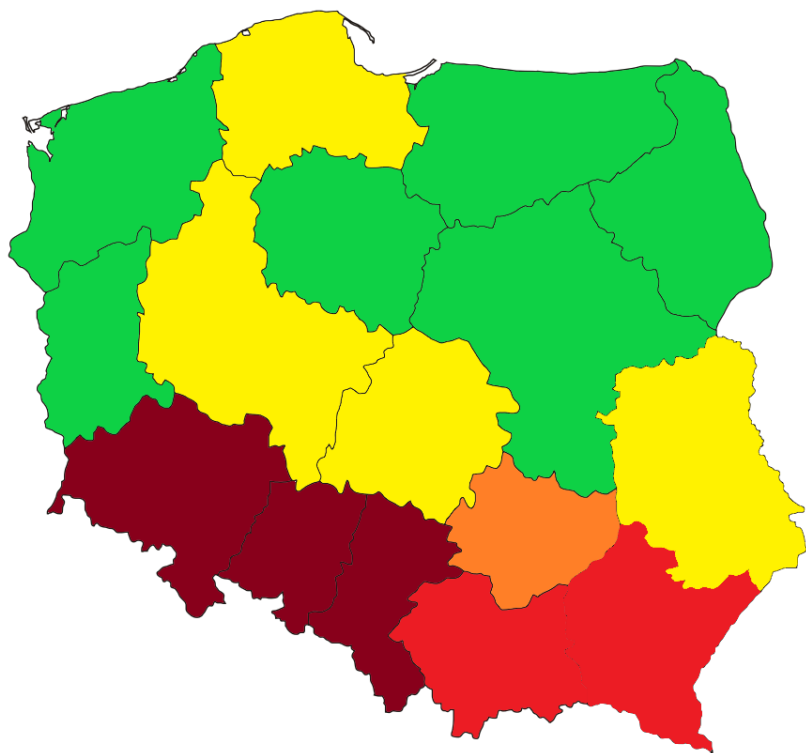




# Temat badawczy 1: **Określenie nasilenia występowania rdzy źdźbłowej w uprawach pszenicy i pszenżyta w Polsce**

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

**Na pszenicy**



**Na pszenżycie**



0



0,0001-0,001



0,001-0,01



0,01-0,1



0,1-1



## 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 poletok 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 było 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 3: **Badania różnicowania populacji *Puccinia graminis***

### **Cel tematu badawczego:**

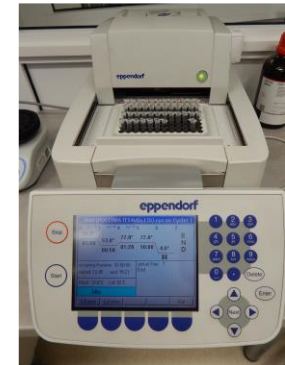
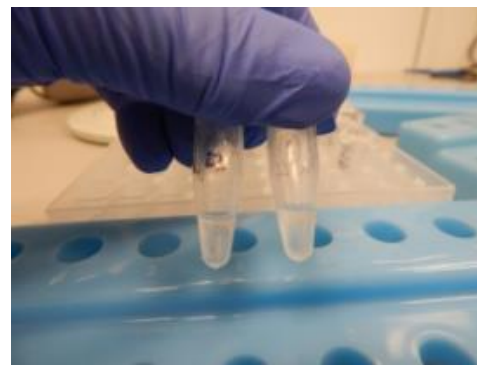
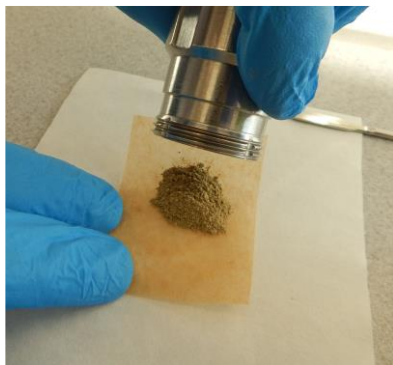
Celem tematu jest określenie stopnia różnicowania genetycznego populacji *Puccinia graminis*

Cel w trakcie realizacji

.

### **Realizacja badań:**

Prowadzono są analizy molekularne celem potwierdzenia identyfikacji grzyba rdzawnikowego, zdiagnozowanego na podstawie morfologii i objawów na źdźbłach zbóż jako *P. graminis* przy pomocy analizy sekwencji regionów ITS (internal transcribed spacer) i LSU (large subunit) oraz określono jego różnicowania genetycznego na podstawie analizy porównawczej badanych próbek oraz sekwencji zdeponowanych w GenBank NCBI. Materiał badawczy stanowiło 40 próbek pobrane z pszenicy i pszenżyta. Jednak ze względu na bardzo małe ilości uredyniów dla większości próbek nie udało się uzyskać odpowiedniego stężenia grzyba. Z tego względu znaczną część trzeba powtarzać.





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

### **Cel tematu badawczego:**

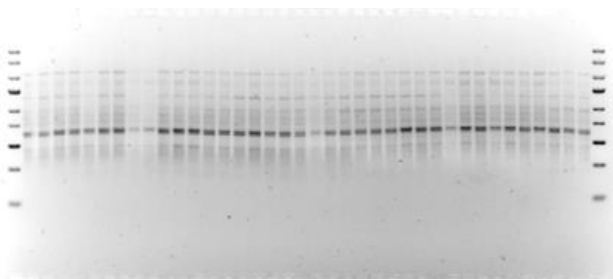
Celem tematu jest oznaczenie zróżnicowania genetycznego badanych grup roślin (gatunków, odmian, rodów, linii), wskazanie najlepszego systemu markerowego do identyfikacji genotypów u badanych gatunków oraz wskazanie potencjalnych genetycznych markerów odporności wspomagających hodowlę opartą na markerach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

Cel w trakcie realizacji

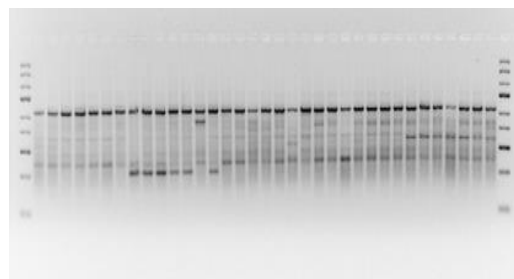
### **Realizacja badań:**

Dla 10 genotypów pszenicy i 10 genotypów pszenżyta przeprowadzono analizy dotyczące molekularnych markerów odporności. Ze względu na brak genotypów mogących stanowić linie kontrolne w badaniach nie zastosowano obiektów kontrolnych, do których można by odnosić uzyskane wyniki badań. Badanie zróżnicowania genetycznego wyselekcjonowanych genotypów pszenicy i pszenżyta oparto na systemach markerowych ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat), SCoT (Start Codon Targeted) oraz RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA). Z bazy internetowej maswheat.ucdavis.edu wybrano 10 markerów genów odporności. Przeprowadzono reakcję PCR z wykorzystaniem starterów flankujących wybrany gen odporności.

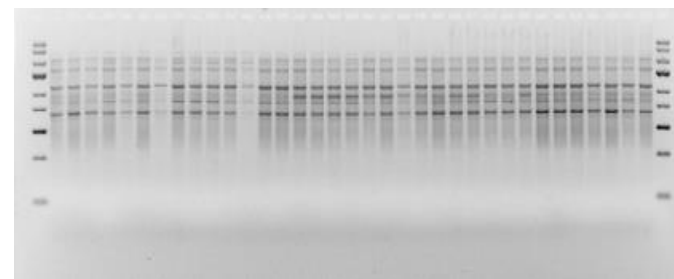
Przykładowe obrazy wzorów prążków DNA uzyskane na żelu agarozowym po rozdiale elektroforetycznym produktów PCR wykonanych zgodnie z założeniami danego systemu markerowego: RAPD, ISSR i SCoT



RAPD starter



ISSR starter



SCoT starter



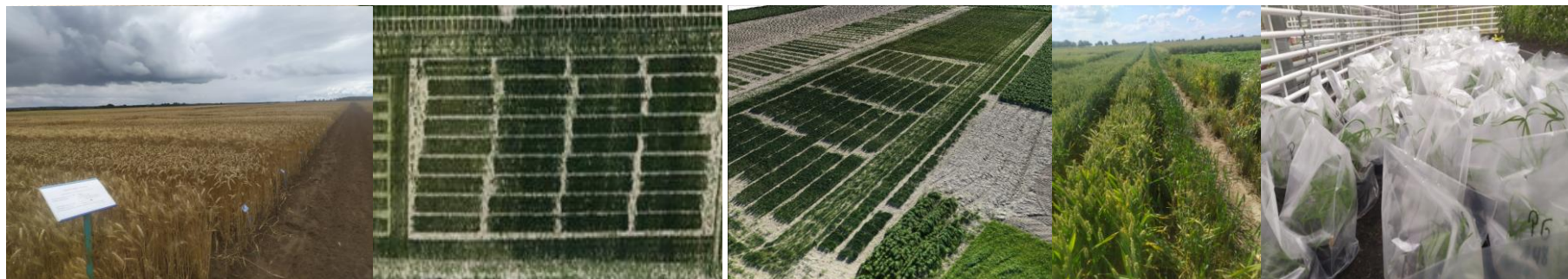
# Temat badawczy 5: **Wrażliwość genotypów pszenicy i pszenżyta na *Puccinia graminis***

## Cel tematu badawczego:

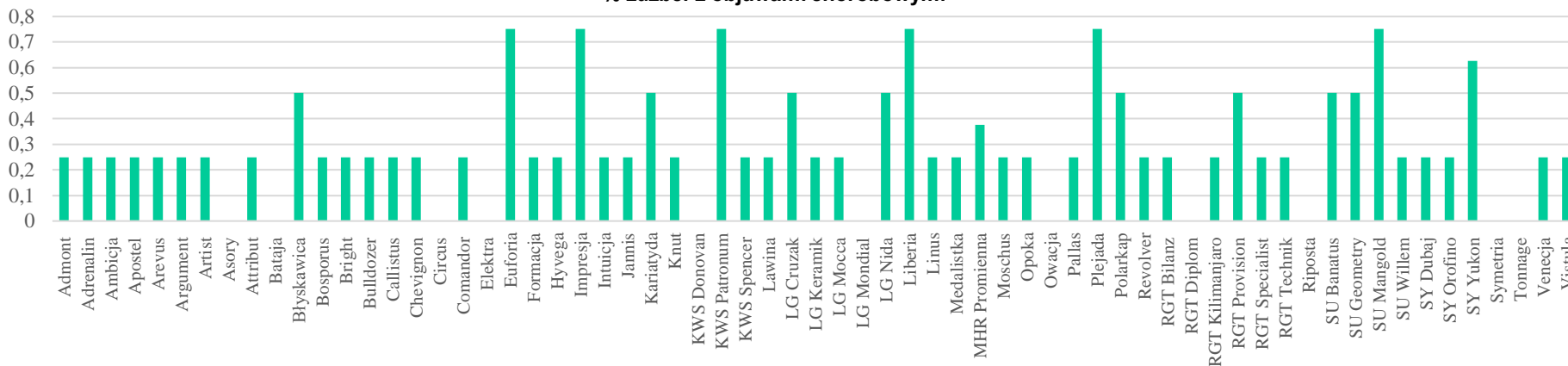
Celem tematu badawczego jest scharakteryzowanie genotypów pszenicy i pszenżyta (odmian, rodów hodowlanych) pod kątem wrażliwości na rdzę żdźbłową.  
 Cel w trakcie realizacji

## Realizacja badań:

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



Nasilenie rdzy żdźbłowej w zależności od genotypu pszenicy uprawianej w Stacji Doświadczalnej Oceny Odmian w Pawłowicach w 2023 roku  
 - % żdźbeł 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 (enzymatycznych i metabolicznych).

Cel w trakcie realizacji

### **Realizacja badań:**

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

Prowadzone są analizy dotyczące występowania metabolicznych i enzymatycznych markerów odporności (defensyn). Oznaczana jest aktywność wybranych enzymów PR oraz zawartość wybranych związków organicznych biorących udział w odpowiedzi na infekcję *P. graminis*, t.j. 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 hydrolaz z klasy  $\beta$ -1,3-glukanaz oraz chitynaz, jako wskaźnik potencjału zwalczania bezpośredniego infekcji powodowanych przez *P. graminis*.
- Analiza zawartości wolnych cukrów, jako wskaźnik zapotrzebowania energetycznego tkanek roślin w przeciwdziałaniu infekcji *P. graminis*.
- Analiza zawartości wolnych związków fenolowych, jako wskaźnik potencjału antyoksydacyjnego tkanek roślin jak również stopnia uwalniania/wiązania/wzmacniania struktury ściany komórkowej.
- Analiza zawartości  $H_2O_2$  w tkankach, jako wskaźnik potencjału zwalczania bezpośredniego (cytotoksyczność), jak również pośredniego przez indukowanie kaskady procesów obronnych.

