

**SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE****z realizacji zadania na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w 2014 roku****A. INFORMACJE OGÓLNE**

Tytuł zadania <b>Piramidyzacja genów odporności na rdzę koronową w genomie owsa oraz identyfikacja i lokalizacja markerów DNA dla tych genów</b>
Numer zadania (w załączniku nr 9 do rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 maja 2010 r. w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa (Dz. U. Nr 91, poz. 595, z późn. zm.)) <b>31</b>
Planowany okres realizacji zadania <b>12 miesięcy</b>
Planowane nakłady w zł <b>80 000</b>

**B. DANE WNIOSKODAWCY**

Imię i nazwisko osoby reprezentującej jednostkę badawczą, tytuł lub stopień naukowy, stanowisko, nazwa i adres jednostki badawczej, telefon, fax)
<b>Stanisław Baran, Prof. dr hab. inż., Prorektor ds. Nauki i Współpracy z Zagranicą, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin Telefon: 81-445-60-66; Fax: 81-533-35-49, e-mail: biuro.rektora@up.lublin.pl</b>

## C. INFORMACJA O WYKONAWCACH

### 1. Zespół badawczy

kierownik zadania		
imię i nazwisko	stopień i tytuł naukowy	miejsce zatrudnienia
<b>Edyta Paczos-Grzęda</b>	dr	<b>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin</b>
wykonawcy zadania		
imię i nazwisko	stopień i tytuł naukowy	miejsce zatrudnienia
<b>Aneta Koroluk</b>	mgr inż.	<b>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin</b>
<b>Krzysztof Kowalczyk</b>	prof. dr hab.	<b>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin</b>
<b>Adam Kuzdrałiński</b>	dr inż.	<b>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Katedra Biotechnologii, Żywnienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności</b>
<b>Justyna Leśniowska- Nowak</b>	dr inż.	<b>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin</b>
<b>Michał Nowak</b>	dr inż.	<b>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin</b>
<b>Sylwia Okoń</b>	dr inż.	<b>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin</b>

2. Kierownik zadania (imię, nazwisko, tytuł lub stopień naukowy, adres do korespondencji, telefon bezpośredni i do sekretariatu jednostki organizacyjnej zatrudniającej kierownika zadania, e-mail kierownika; telefon do oraz dane osoby, z którą można się kontaktować w razie nieobecności kierownika zadania)

**Edyta Paczos-Grzęda, dr**  
**Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie**  
**Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin**  
**ul. Akademicka 15**  
**20-934 Lublin**  
**tel. bezp. (81) 445-68-66, kom. 504098872, sekretariat (81) 445-68-84**  
[edyta.paczos@up.lublin.pl](mailto:edyta.paczos@up.lublin.pl)

*osoba, z którą można się kontaktować w razie nieobecności kierownika zadania*

**Aneta Koroluk, mgr inż.**  
**Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie**  
**Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin**  
**ul. Akademicka 15**  
**20-934 Lublin**  
**tel. (81) 445-68-84, kom. 509089757**  
[aneta.koroluk@up.lublin.pl](mailto:aneta.koroluk@up.lublin.pl)

## D. OPIS ZADANIA

### 1. Cele zadania

Lp.	Cel (zgodnie ze szczegółowym opisem na dany rok)	Czy cel został zrealizowany (tak/nie/częściowo)
1	Określenie patogeniczności izolatów <i>Puccinia coronata</i> skolekcjonowanych w latach 2010-2013 w różnych obszarach kraju	TAK
2	Identyfikacja efektywnych genów odporności na izolaty rdzy koronowej skolekcjonowane na obszarze kraju w latach 2010-2013	TAK
3	Uzyskanie ziarniaków F1 populacji mapujących dla wybranych efektywnych genów odporności	TAK
4	Piramidyzacja efektywnych genów odporności na rdzę koronową	TAK
5	Identyfikacja sekwencji DARTseq i markera RAPD dla genu odporności <i>Pc39</i> w populacji Celer x STH 9210	TAK

3. Opis tematów badawczych (należy sporządzić opis dla tematów badawczych wymienionych w tabeli powyżej; kolejność zgodnie z tabelą powyżej)

#### 3. 1. Identyfikacja genotypów o zdefiniowanych genach odporności.

##### Cel tematu badawczego 1

Określenie wrażliwości/odporności linii kontrolnych o zdefiniowanych genach odporności na 25 różnych izolatów *Puccinia coronata*. Porównanie reakcji dwóch zestawów linii kontrolnych posiadających zdefiniowane geny odporności zarówno w stadium siewek w warunkach laboratoryjnych, jak i w warunkach naturalnej infekcji polowej. Wytypowanie linii do krzyżowań.

Linie różnicujące z genami odporności na rdzę koronową uzyskano z dwóch źródeł: Cereal Disease Lab, United States Department of Agriculture w St. Paul w Minnesocie w Stanach Zjednoczonych oraz z Agriculture and Agri-Food Canada w Winnipeg w Manitobie w Kanadzie. We wstępnych testach na pojedynczych izolatach reakcja linii z tymi samymi genami była różna. Wskazywać to może na istnienie wariantów allelicznych genów odporności. Dlatego też celem badań było określenie właściwego zestawu linii do dalszych prac. Testy żywiciel-patogen przeprowadzono na 50 liniach kontrolnych zawierających zdefiniowane geny odporności wykorzystując 25 izolatów wyprowadzonych z populacji *Puccinia coronata* f.sp. *avenae* skolekcjonowanych w różnych rejonach kraju w latach 2010-2013.

Tab. 3. Odczyt testu porażenia skolekcjonowanymi izolatami rdzy koronowej linii zawierających różne geny odporności.

Lp.	Izolat	14	35	36	38	39 USA	39 Kan	Celer	40USA	40 Kan	45	46 USA	46 Kan	48 USA	48 Kan	50 USA	50 Kan	51 USA	51 Kan	52	54	55	
1	Pol1 PK1	0	3	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0N	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0N
2	Pol1 PK2	0	2	0N	3	0	0N	0	4	1	0	1	1N	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1N
3	Pol 2 pk1	0	0	0N	0N	0N	0	0	0	0	0	0N	0N	0	0	0	0	0N	0N	0	0N	bd	
4	Pol2 PK2	0	0	0	0N	0N	0	0	0	0	0	0N	0	0	0	0	0	0	0	0	0N	0N	
5	Pol 2013 PK1	3N	4N	3N	3N	3	3	2N	3	3N	3N	3N	4	0N	0	0	0	0N	0N	0	3	3N	
6	Pol 2013 PK2	3	4	2N	3	4	4	2N	4	4	4	4	4	0	0	0	0	0N	1N	0N	3	3N	
7	D 2011 PK1	0	2	2N	3N	0N	1N	0N	1N	0N	3N	0	0	4	4	0	0	0	1N	0	4	0N	
8	D 2011 PK2	0	3N	0N	4N	0	0N	0	1N	0N	4	0	0N	3N	4	0	0	0	0	0N	4	0	
9	Danko 2013 PK1	0	4N	0	3N	2N	0N	0	0N	0N	2N	0N	0N	0N	2N	0	0	0	0	0	3N	0	
10	Danko 2013 PK2	0	4N	2N	3N	3N	0N	0N	0N	0N	3N	0N	0N	3N	2N	0	0	0	0N	0N	2N	0N	
11	Danko 2013 PK2/1	0	4N	0	2N	0	0	0	0N	0N	1N	0N	0	0N	1N	0	0	0	0	0	1N	1N	
12	PK PK1	0	0N	1N	3N	0N	0N	0	0	0	4	0N	0N	0N	0	0	0	0N	4N	0	4N	1N	
13	PK PK2	0	0	0N	1N	0	0	0	0	0	4	0N	0N	0	0N	0	0N	0N	2N	0	4	0N	
14	P4 2010 PK1	0	0	1N	1N	0	0	0	0	0	4	0	0N	0	0	0	0	0	3N	0	4	2N	
15	P4 2010 PK2	0	0	0N	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0N	0	0	0	3	0	
16	Strzelce 2011 PK1	0	4	0N	4	0	0	0N	1N	0	4	0	0N	1N	0N	1	0	0	0N	0	1	1N	
17	Strzelce 2011 PK2	0	3	4	4	0N	0N	0	0N	0	4	3	0	0N	0N	0	0N	0	0N	0	3	0	
18	Strzelce 2013 PK1	0	3	1N	3N	0	0	0	0	0	4	1N	3	0	0	0	4	0	0	0	3	0	
19	Strzelce 2013 PK2	0	3N	0N	3N	0	0	0N	0	0	3	3	3	1	0	0	0	0	0	0	2	0N	
20	Biłgoraj PK1	0N	1N	0	0	1N	1N	0N	0N	0N	0	0N	0N	0	4	0	0	2N	0	0N	2N	0N	
21	Biłgoraj PK2	0	3	0	0	1N	0N	0	0N	0	0	0	0	0	0N	0	0	0	0	0	2N	0	
22	Biłgoraj PK2/1	0N	2	2N	2N	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0N	
23	Celer 2013 PK2/1	0	2	3N	2	3	2	2	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
24	Celer 2013 PK1	0	2	3	0	2	3	1	0	0	4N	0N	1N	0	0	0	0	1N	2N	0	4	2	
25	Dąbrowica 2013 PK1	3N	2N	0N	3	0	0	0	3N	2N	0N	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3N	bd	
	Suma porażeń	3	19	11	20	8	6	4	7	4	17	6	6	5	6	1	1	2	6	0	20	9	
	Suma odporności	22	6	14	5	17	19	21	18	21	8	19	19	20	19	24	24	23	19	25	5	14	

Lp.	Izolat	56	57	58 USA	58 Kan	59 USA	59 Kan	60	61	62	63	64	67	68	70	71	91	94 USA	94 Kan	96 USA	96 Kan	97 Kan	
1	Pol1 PK1	0	0	0	1N	0	0	0	0	2N	3N	0N	4	0	1N	0N	0	3	4	0	0	0N	
2	Pol1 PK2	0	0	0	2N	0	0N	0	1N	1N	3	1N	4	0	1N	0	0	4	3	0	0	1N	
3	Pol 2 pk1	1N	0N	0	0	0	0	0	0N	0	0	0N	2N	0	0N	0	0	1N	0N	0	0	2N	
4	Pol2 PK2	1N	0N	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0N	0	0N	0	0	0N	0N	0	0	0	
5	Pol 2013 PK1	1N	0N	0N	3	0N	0N	2N	2N	1N	3N	1N	4	0	2N	0N	0	0	0	2N	1N	2N	
6	Pol 2013 PK2	2N	1N	2N	3	0N	0N	2N	2N	1N	1N	0N	3	0	3N	0N	0	0N	0	2	3	4	
7	D 2011 PK1	1N	0	0	0	0	0	0	0	0N	0N	0	4N	0	1N	0N	0	0	0	1N	0N	1N	
8	D 2011 PK2	0	0N	0	0	0N	0	0N	0	0N	2N	0	4	0	3	0	0	0	0N	3N	0N	1N	
9	Danko 2013 PK1	3N	0	2N	2N	0N	0N	0N	1N	0N	0N	0	3	0	4N	0	0	0	0N	0	0	0N	
10	Danko 2013 PK2	3N	0	1N	0N	0N	0	0N	0N	0N	0	0	3N	0	4N	0	0	0N	0N	0N	0	0N	
11	Danko 2013 PK2/1	1N	0	0N	0N	bd	0	0	0	0N	0N	0	4N	0	0	0	0	0N	1N	1N	2N	1N	
12	PK PK1	0N	0	0	0	0	0	0N	0	0N	0	0	2N	0N	0N	0	0	0N	0N	0N	0N	0N	
13	PK PK2	0N	0	0	0	0	0	0N	2N	0N	0N	0N	4	0	3N	0N	0	0	0	0N	0	2N	
14	P4 2010 PK1	2	0	0	0	0	0	0N	0	0	0N	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0N	1N
15	P4 2010 PK2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	
16	Strzelce 2011 PK1	3N	0	2N	1N	0	0N	0N	2N	0N	3	0	4	0	4	0	0	2N	0N	0N	0N	0	
17	Strzelce 2011 PK2	3	0	2N	3	1N	1N	0N	0	0	3	0N	3	0N	0N	0N	0	3	2N	0N	0N	0N	
18	Strzelce 2013 PK1	4	0	0	0	0N	0	0	0N	0N	0	0	3	0N	0	0	0	0N	0N	2N	3	4	
19	Strzelce 2013 PK2	2	0N	0N	0	0	0	0	0	0N	0N	0	4	0	2N	0	0	0	0N	3	1N	4N	
20	Biłgoraj PK1	3N	2N	0	4	0N	3N	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0N	0	0	0N	0	0	
21	Biłgoraj PK2	3N	0N	0N	4N	0	0N	0N	0	0N	0	0	3N	0	0N	0	0	0	0N	0	0N	0N	
22	Biłgoraj PK2/1	4N	0N	1	2	0	0N	0N	0	0N	0	0	4	0	0	0	0	0	0N	1N	1N	3N	
23	Celer 2013 PK2/1	0	0	0	0	0N	0	0	3	1	0	3N	2	0	3	0N	0	0N	0	0	0	3N	
24	Celer 2013 PK1	2	0	0	0	0N	0	0	4	0N	0N	2N	4	0	4	1N	0	3N	1N	0N	0	2N	
25	Dąbrowica 2013 PK1	2N	0	0	0	0	0	0	3N	0N	4	0	0	0	3N	0	0	0	0	0	0	1N	
	Suma porażeń	18	2	6	10	1	2	2	9	5	8	4	22	0	14	1	0	6	6	9	6	15	
	Suma odporności	7	23	19	15	23	23	23	16	20	17	21	3	25	11	24	25	19	19	16	19	10	

Lp.	Izolat	98 Kan	101 Kan	103-1 Kan	104 Kan	Furman	STH 8074	0.2942	0.4044	Arden	Arab	Finley	CHD 3843	DC 06011-8	OA 1306	Leggett_68_94	HiFi_91	TAM 0-301-1_58	Ronald 38_39_68	Potoroo	TAM-0-312 59	Kasztan
1	Pol1 PK1	1N	0	0	0	0N	0	0N	bd	2N	2N	0N	0N	2N	1N	0	0	0	0	0N	0N	4
2	Pol1 PK2	1N	0	1N	0	0N	0N	0N	0N	2N	2N	0N	0N	2N	2N	0	0	0N	0	0N	0N	4
3	Pol 2 pk1	0	0	0N	0	0N	0	0	0	0	0	0	0N	2N	0	0	0	0	0	0	0	3N
4	Pol2 PK2	0	0	0N	0	0	0	0N	0N	0	0	0	0N	2N	0N	0	0	0	0	0	0	3N
5	Pol 2013 PK1	2N	1N	3	0N	3N	0N	3N	2N	3N	3N	3N	3N	3N	3N	0	0N	0N	0N	0N	3N	4
6	Pol 2013 PK2	3N	3N	3	0N	3N	3N	3N	2N	3N	3N	3N	3N	3N	3N	0	0N	0N	0	0N	3N	4
7	D 2011 PK1	0	0	0N	0	3N	0	3N	2N	4	3N	0	0	2N	0	0	0	0	0	3N	0	4
8	D 2011 PK2	0	0	1	0	3N	0	3N	2N	4	2N	0N	0N	2N	0N	0	0	0	0	3N	0	4
9	Danko 2013 PK1	0	0	4N	0N	0	0	0N	0	4	0	0	0N	2N	3N	0	0	0	0	0	0N	4
10	Danko 2013 PK2	0	0	3N	0	0N	0	0N	0N	4	0N	0N	0N	3N	2N	0	0	0N	0	0	0	4
11	Danko 2013 PK2/1	0	0	3N	0	0N	0	3N	0N	4	0N	0N	0N	3N	2N	0	0	0N	0	0N	0N	4
12	PK PK1	0N	0	0	0	0	0	0N	2N	2	2N	0	0	0	0	0	0	0	0	2N	1	bd
13	PK PK2	0	0	0	0	0	0	0N	2N	3	2N	0	0	0	0	0	0	0	0	2N	0	4
14	P4 2010 PK1	0	0	0	0N	0	0	0N	2N	0	2N	0	0	0	0	0	0	0	0	2N	0	4
15	P4 2010 PK2	0	0	0	0	1	0	2N	2N	3N	2N	0	0	0	0	0	0	0	0	2N	0	4
16	Strzelce 2011 PK1	0N	3	1N	0N	0	0	0N	2N	4	2N	0N	0N	4	4	0	0	0N	0	2N	3N	4
17	Strzelce 2011 PK2	0N	3	1N	0N	1N	0	0N	2N	4	4	0N	0	3N	3	0	0	0N	0	0N	3N	4
18	Strzelce 2013 PK1	0	0N	1N	0	0N	0	0	0N	3	0	0	0N	3N	0	0	0	0	0	0N	0	4
19	Strzelce 2013 PK2	0	0N	1N	0	0N	0	0	0N	4	0	0	0	3N	0N	0	0	0	0	0N	0	4
20	Biłgoraj PK1	3N	0	4N	0	1N	0	0N	0N	4	3N	0N	0N	3N	0N	0	0	0N	0	0N	0N	4
21	Biłgoraj PK2	0	0	1N	0N	1N	0	2N	0N	4	3N	0N	0N	3N	0N	0	0	0N	0	0N	2N	4
22	Biłgoraj PK2/1	0	0	2N	0	0N	0	0N	0N	4	3N	0N	0N	3N	0	0	0	0N	0N	0N	3	4
23	Celer 2013 PK2/1	1N	0N	4N	0	2N	1N	2N	2N	4	2N	2N	2N	4	0N	0	0	0	0	0N	0	4
24	Celer 2013 PK1	1N	0N	3N	0	3N	0N	0N	0N	2N	0N	0	2N	2N	0N	0	0	0	0	0	0	4
25	Dąbrowica 2013 PK1	0	0	1N	0	0	0	0N	0N	4	0	0	0	2N	0N	0	0	0	0	0	0	4
	Suma porażen	7	4	17	0	10	2	8	11	22	16	3	4	21	9	0	0	0	0	7	7	24
	Suma odporności	18	21	8	25	15	23	17	13	3	9	22	21	4	16	25	25	25	25	18	18	0

Spośród badanych linii najsilniej porażone były *Pc55* i *Pc67* (Tab. 3). Odporność tych linii została przełamana przez odpowiednio 20 i 22 spośród testowanych izolatów. Pełną odpornością w testach na młodych liściach w warunkach laboratoryjnych wykazały się linie: *Pc52*, *Pc68*, *Pc91* i *Pc104* (Rys. 1). Pojedyncze spośród badanych izolatów przełamały odporność linii: *Pc50* USA, *Pc50* Kan, *Pc59* USA i *Pc71*, zaś po dwa izolaty przełamały odporność linii *Pc51*USA, *Pc59*K i *Pc60*.

Oprócz linii referencyjnych do analiz wybrano kilka polskich odmian i linii, które w poprzednich latach badań charakteryzowały się zwiększoną odpornością na rdzę koronową oraz odmiany zagraniczne zawierające określone geny odporności.

Linia STH 8074 pochodząca z HR Strzelce, będąca efektem krzyżowania z *A. sterilis* została porażona tylko przez dwa izolaty, jeden pochodzący z Polanowic (2013), drugi z Czesławic (2013). Zastanawiające jest jednak to, że *A. sterilis* wykorzystywany do uzyskania tej kombinacji nie jest odporny na rdzę. Być może do krzyżowań wykorzystano nieustabilizowany i niejednorodny materiał, segregujący pod względem odporności.

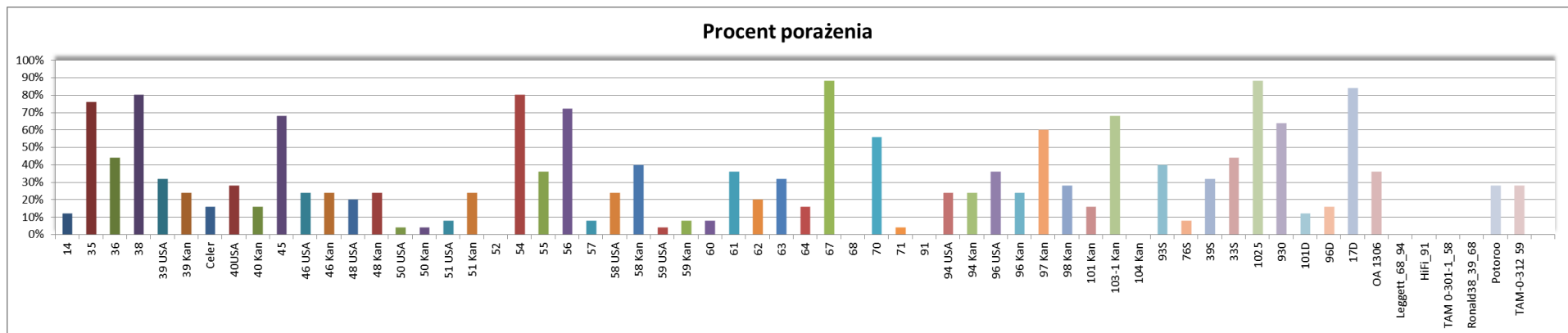
Wysoką odpornością cechowała się również linia CHD 3843, podobnie jak odmiana Finley, która znajduje się w rodowodzie wspomnianej linii. Odporność tych form została przełamana, podobnie jak w przypadku linii STH 8074, tylko przez izolaty z Polanowic i Czesławic z roku 2013. Niemniej jednak rodowody tych form są odmienne. Obraz porażenia odmiany Finley i obu linii przypomina profil porażenia linii z genami *Pc60* i *Pc64*, ale nie odpowiada w pełni porażeniu żadnej z linii kontrolnych,

Odmiany Leggett, Hi-Fi, Ronald czy TAM 301-1 nie zostały porażone przez żaden z wykorzystanych w teście izolatów. Posiadają one odpowiednio geny: *Pc68* i *Pc94*; *Pc91*; *Pc38*, *Pc39* i *Pc68* oraz *Pc58*.

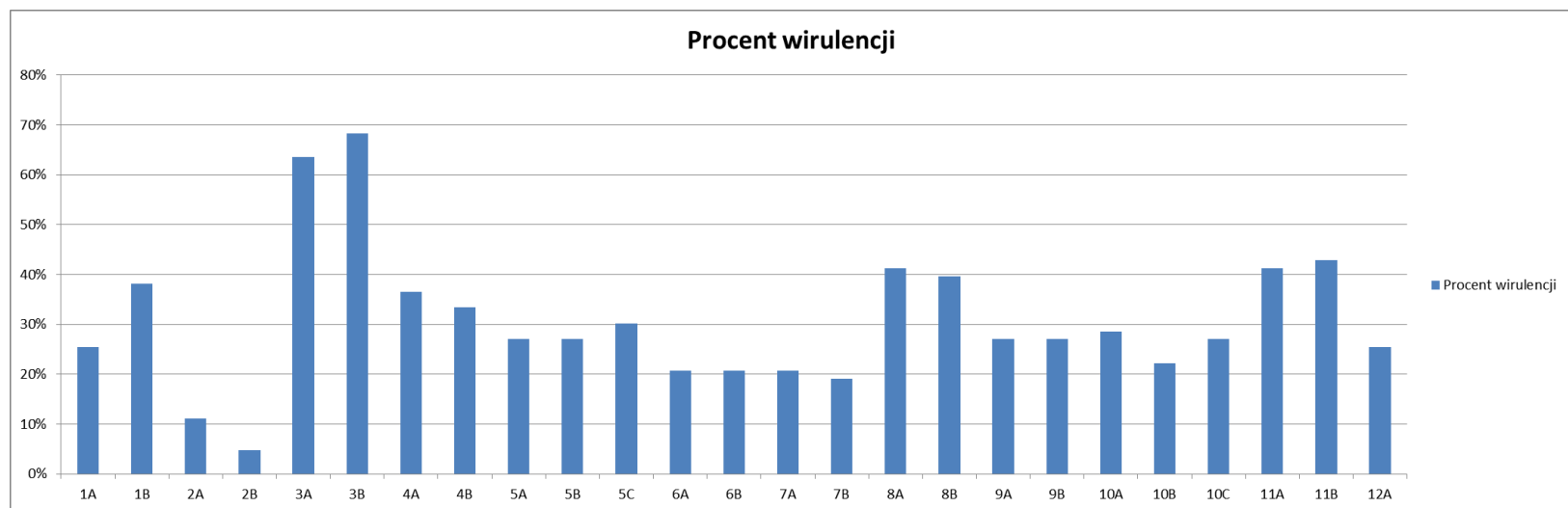
Największą zjadliwość w przeprowadzonym teście wykazały izolaty wyprowadzone z populacji skolekcjonowanych w Polanowicach w 2013 roku, Strzelcach (2011r.) oraz w Czesławicach (2013r.) (Rys. 2). Jako najbardziej wirulentne mogą być z powodzeniem stosowane do testowania materiałów pod kątem ich odporności na rdzę koronową.

W celu oceny porażenia linii o zdefiniowanych genach odporności w warunkach naturalnej infekcji polowej założono doświadczenia polowe w czterech lokalizacjach: Czesławicach, Strzelcach, Kopaszewie i Polanowicach. W trakcie wegetacji dwukrotnie przeprowadzono ocenę porażenia. W Kopaszewie rdza koronowa nie wystąpiła, nie obserwowano objawów infekcji. Wszystkie linie, łącznie z kontrolą pozostały zdrowe.

W pozostałych trzech lokalizacjach rdza koronowa wystąpiła z różnym nasileniem. Największe porażenie obserwowano w Czesławicach, mniejsze w Polanowicach, zaś najmniejsze w Strzelcach (Tab. 4, Rys. 3). Średnie porażenie w Strzelcach, wyniosło 1,4, w Polanowicach 1,2, zaś w Czesławicach 4,2. W Strzelcach i Polanowicach porażonych było odpowiednio 13 i 17 spośród 46 testowanych linii. Za porażone uznano linie z objawami choroby ocenionymi co najmniej na 3 (w skali 0, 1-9, gdzie 0 oraz 1 oznaczają stan najlepszy, zaś 9 – najgorszy). W doświadczeniu założonym w Czesławicach porażonych było aż 30, czyli ok. 60% linii. Przeprowadzona ocena pozwala uznać za najbardziej efektywne, w warunkach naturalnej infekcji polowej, w stadium rośliny dorosłej geny: *Pc52*, *Pc71* oraz *Pc91*. Spośród wymienionych *Pc52* i *Pc91* były również całkowicie odporne w stadium siewki. Inne wartościowe w stadium rośliny dorosłej geny to: *Pc36*, *Pc51*USA, *Pc57*, *Pc 8*USA, *Pc58*K, *Pc59*U, *Pc59*K, *Pc60*, *Pc70*, *Pc103* i *Pc104*.



Rys. 1. Procent porażenia skolekcjonowanymi izolatami rdzy koronowej testowanych linii zawierających różne geny odporności

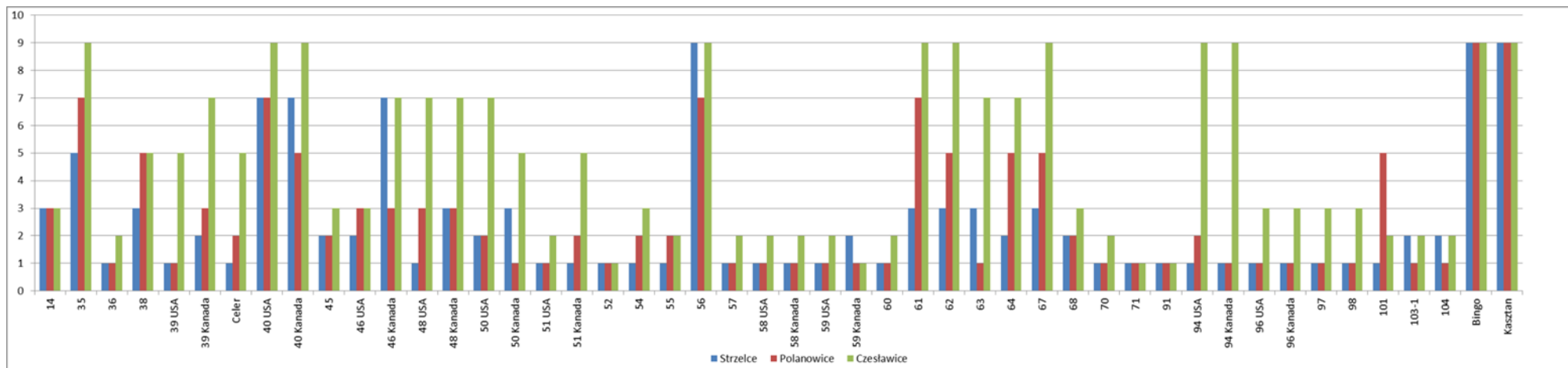


Rys. 2. Procent wirulencji izolatów rdzy koronowej względem testowanych linii z różnymi genami odporności  
Oznaczenia izolatów zgodne z opisem w tabeli 2.



Tab. 4. Stopień porażenia rdzą koronową odmian i linii owsa w doświadczeniach polowych prowadzonych w Strzelcach, Polanowicach i Czesławicach.

Nr polowy	Linia	Stopień porażenia w lokalizacji		
		Strzelce	Polanowice	Czesławice
CR1	14	3	3	3
CR2	35	5	7	9
CR3	36	<b>0</b>	<b>0</b>	1
CR4	38	3	5	5
CR5	39 USA	<b>0</b>	<b>0</b>	5
CR6	39 Kanada	1	3	7
CR7	Celer	<b>0</b>	1	5
CR8	40 USA	7	7	9
CR9	40 Kanada	7	5	9
CR10	45	1	1	3
CR11	46 USA	1	3	3
CR12	46 Kanada	7	3	7
CR13	48 USA	<b>0</b>	3	7
CR14	48 Kanada	3	3	7
CR15	50 USA	1	1	7
CR16	50 Kanada	3	<b>0</b>	5
CR17	51 USA	<b>0</b>	<b>0</b>	1
CR18	51 Kanada	<b>0</b>	1	5
CR19	52	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
CR20	54	<b>0</b>	1	3
CR21	55	<b>0</b>	1	1
CR22	56	9	7	9
CR23	57	<b>0</b>	<b>0</b>	1
CR24	58 USA	<b>0</b>	<b>0</b>	1
CR25	58 Kanada	<b>0</b>	<b>0</b>	1
CR26	59 USA	<b>0</b>	<b>0</b>	1
CR27	59 Kanada	1	<b>0</b>	<b>0</b>
CR28	60	<b>0</b>	<b>0</b>	1
CR29	61	3	7	9
CR30	62	3	5	9
CR31	63	3	<b>0</b>	7
CR32	64	1	5	7
CR33	67	3	5	9
CR34	68	1	1	3
CR35	70	<b>0</b>	<b>0</b>	1
CR36	71	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
CR37	91	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
CR38	94 USA	<b>0</b>	1	9
CR39	94 Kanada	<b>0</b>	<b>0</b>	9
CR40	96 USA	<b>0</b>	<b>0</b>	3
CR41	96 Kanada	<b>0</b>	<b>0</b>	3
CR42	97	<b>0</b>	<b>0</b>	3
CR43	98	<b>0</b>	<b>0</b>	3
CR44	101	<b>0</b>	5	1
CR45	103-1	1	<b>0</b>	1
CR46	104	1	<b>0</b>	1
S17	Kasztan	9	9	9



Rys. 3. Stopień porażenia rdzą koronową różnych odmian owsa w doświadczeniach polowych prowadzonych w Strzelcach, Polanowicach i Czesławicach

## Wnioski

1. Pełną odporność w testach na młodych liściach w warunkach laboratoryjnych wykazały linie: *Pc52*, *Pc68*, *Pc91* i *Pc104*
2. Pojedyncze spośród badanych izolatów przełamały odporność linii: *Pc50* USA, *Pc50* Kan, *Pc59* USA, *Pc71*, *Pc51USA*, *Pc59K* i *Pc60*.
3. Największą zjadliwością w przeprowadzonym teście wykazały się izolaty wyprowadzone z populacji skolekcjonowanych w Polanowicach w 2013 roku, Strzelcach (2011 r.) oraz w Czesławicach (2013r.).
4. W roku 2014 w doświadczeniach polowych największe porażenie badanych linii kontrolnych obserwowano w Czesławicach, mniejsze w Polanowicach, zaś najmniejsze w Strzelcach. W Kopaszewie nie zaobserwowano objawów infekcji grzybem *Puccinia coronata*.
5. Za najbardziej efektywne w warunkach naturalnej infekcji polowej w stadium rośliny dorosłej można uznać geny: *Pc52*, *Pc71* oraz *Pc91*. *Pc52* i *Pc91* były również całkowicie odporne w stadium siewki.
6. Efektywne w stadium rośliny dorosłej są także geny: *Pc36*, *51USA*, *57*, *58USA*, *58K*, *59U*, *59K*, *60*, *70*, *103* i *104*.
7. Jako dobre źródło genów odporności rozważyć należy zagraniczne odmiany z pojedynczymi lub spiramidzowanymi genami odporności.

### 3. 2. Określenie spectrum patogeniczności izolatów *Puccinia coronata* pochodzących z różnych obszarów kraju.

Cel tematu badawczego 2

Określenie spectrum patogeniczności izolatów *Puccinia coronata* pochodzących z różnych obszarów kraju skolekcjonowanych w latach 2010-2013. Poszerzanie kolekcji izolatów *Puccinia coronata*.

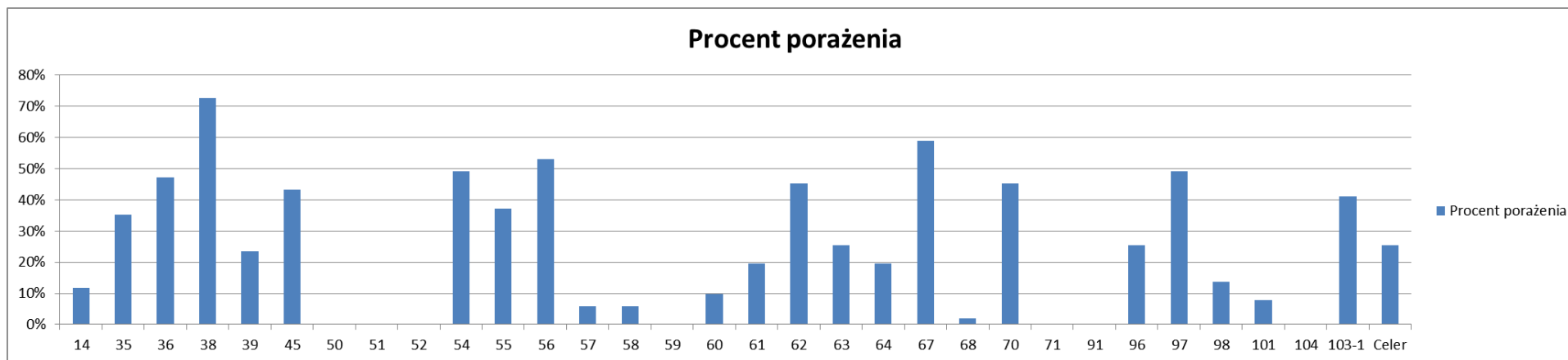
## Wyniki

Do określenia spectrum patogeniczności 50 izolatów wyprowadzonych z populacji *Puccinia coronata* pochodzących z różnych obszarów kraju skolekcjonowanych w latach 2010-2013 (Tab. 5) wykorzystano 30 linii kontrolnych o zdefiniowanych genach odporności. Najbardziej agresywnymi izolatami w stosunku do testowanych linii były izolaty wyprowadzone z populacji skolekcjonowanych w Polanowicach, Czesławicach, Gościejewie i Radzikowie w 2013 roku (Rys. 5). Najmniejszą wirulencją charakteryzowały się izolaty wyprowadzone z populacji pochodzącej z Tomaszowic (k/Lublina). Miejscowość ta położona jest niecałe 10 km od Czesławic, gdzie skolekcjonowano jedną z najbardziej zjadliwych populacji.

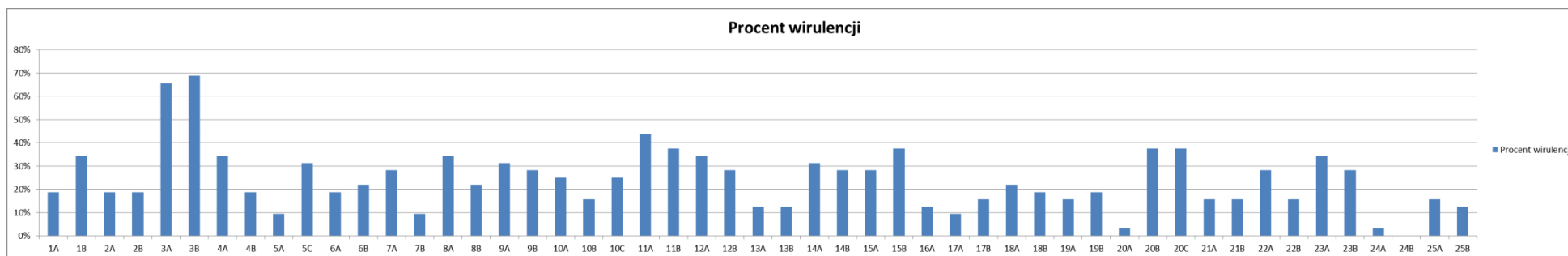
Najwięcej izolatów (ponad 70%) poraziło linię *Pc38*, prawie 69% linię *Pc67*, zaś ok. 50% izolatów przełamało odporność linii *Pc36*, *Pc54*, *Pc56*, *Pc62*, *Pc70*, *Pc97* (Rys. 4). Żaden z wykorzystanych izolatów nie przełamał odporności linii *Pc50*, *Pc51*, *Pc52*, *Pc59*, *Pc71*, *Pc91* i *Pc104*.

Tab. 5. 50 izolatów wyprowadzonych z populacji *Puccinia coronata* f.sp. *avenae* testowanych na wybranych liniach kontrolnych owsa.

Lp.	Nr izolatu	Oznaczenie IGHIBR	Miejscowość	Województwo	Rok
1	1A	Pol1 PK1	Polanowice	małopolskie	2010
2	1B	Pol1 PK2	Polanowice	małopolskie	2010
3	2A	Pol 2 PK1	Polanowice	małopolskie	2010
4	2B	Pol 2 PK2	Polanowice	małopolskie	2010
5	3A	Pol 2013 PK1	Polanowice	małopolskie	2013
6	3B	Pol 2013 PK2	Polanowice	małopolskie	2013
7	4A	D 2011 PK1	Kopaszewo	wielkopolskie	2011
8	4B	D 2011 PK2	Kopaszewo	wielkopolskie	2011
9	5A	Danko 2013 PK1	Kopaszewo	wielkopolskie	2013
10	5B	Danko 2013 PK2	Kopaszewo	wielkopolskie	2013
11	5C	Danko 2013 PK2/1	Kopaszewo	wielkopolskie	2013
12	6A	PK PK1	Czesławice	lubelskie	2010
13	6B	PK PK2	Czesławice	lubelskie	2010
14	7A	P4 2010 PK1	Dąbrowica	lubelskie	2010
15	7B	P4 2010 PK2	Dąbrowica	lubelskie	2010
16	8A	Strzelce 2011 PK1	Strzelce	łódzkie	2011
17	8B	Strzelce 2011 PK2	Strzelce	łódzkie	2011
18	9A	Strzelce 2013 PK1	Strzelce	łódzkie	2013
19	9B	Strzelce 2013 PK2	Strzelce	łódzkie	2013
20	10A	Biłgoraj PK1	Biłgoraj	lubelskie	2013
21	10B	Biłgoraj PK2	Biłgoraj	lubelskie	2013
22	10C	Biłgoraj PK2/1	Biłgoraj	lubelskie	2013
23	11A	Celer 2013 PK2/1	Czesławice	lubelskie	2013
24	11B	Celer 2013 PK1	Czesławice	lubelskie	2013
25	12A	Dąbrowica 2013 PK1	Dąbrowica	lubelskie	2013
26	13A	Cieszyn PK1	Cieszyn	śląskie	2013
27	13B	Cieszyn PK2	Cieszyn	śląskie	2013
28	14A	Firlej PK1	Czerwonka	lubelskie	2013
29	15A	Gościejewo PK1	Gościejewo	wielkopolskie	2013
30	15B	Gościejewo PK2	Gościejewo	wielkopolskie	2013
31	16A	J Białe populacja	Włodawa	lubelskie	2013
32	17A	Kozłówka PK1	Kozłówka	lubelskie	2013
33	17B	Kozłówka PK2	Kozłówka	lubelskie	2013
34	18A	Motycz PK1+pop	Motycz	lubelskie	2013
35	18B	Motycz PK2	Motycz	lubelskie	2013
36	19A	Radziemice PK1	Radziemice	małopolskie	2013
37	19B	Radziemice PK2	Radziemice	małopolskie	2013
38	20A	Radzików 2013 PK1	Radzików	mazowieckie	2013
39	20B	Radzików 2013 PK2	Radzików	mazowieckie	2013
40	20C	Radzików 2013 PK2/1	Radzików	mazowieckie	2013
41	21A	Ryki PK1	Ryki	lubelskie	2013
42	21B	Ryki PK2	Ryki	lubelskie	2013
43	22A	Statoil PK1	Grabin	warmińsko-mazurskie	2013
44	22B	Statoil PK2	Grabin	warmińsko-mazurskie	2013
45	23A	Stare Babki PK1	Zadwórze	pomorskie	2013
46	23B	Stare Babki PK2	Zadwórze	pomorskie	2013
47	24A	Tomaszowice PK1	Tomaszowice	lubelskie	2013
48	24B	Tomaszowice PK2	Tomaszowice	lubelskie	2013
49	25A	Załużki PK1	Załużki	mazowieckie	2013
50	25B	Załużki PK2	Załużki	mazowieckie	2013



Rys. 4. Procent porażenia wybranych linii kontrolnych owsa o zdefiniowanych genach odporności skolekcjonowanymi pięćdziesięcioma izolatami rdzy koronowej.



Rys. 5. Procent wirulencji izolatów rdzy koronowej względem wybranych testowanych linii z różnymi genami odporności.

W sezonie wegetacyjnym 2014 roku z różnych lokalizacji na terenie Polski zebrano populacje *Puccinia coronata* w celu poszerzenia kolekcji izolatów *Puccinia coronata* oraz monitorowania zmian w wirulencji patogenu. Populacje zostały zebrane na terenie województw: śląskiego, podlaskiego, podkarpackiego, małopolskiego, łódzkiego, świętokrzyskiego, kujawsko-pomorskiego, zachodniopomorskiego i lubelskiego (Tab. 6). Najwięcej wybranych izolatów pochodzi z województwa małopolskiego. Z uwagi na ich zjadliwość aż trzy izolaty pochodzą z Polanowic. Zebrano również populację w Czesławicach. W trakcie wielokrotnych pasażów z pojedynczych zarodników z populacji grzyba wyprowadzono po dwa izolaty *Puccinia coronata*. Otrzymane izolaty w roku kolejnym zostaną przetestowane na serii linii kontrolnych, co pozwoli na usunięcie ewentualnych duplikatów – izolatów porażających linie kontrolne w ten sam sposób, a także pozwoli na monitorowanie zmian w populacji patogenu oraz identyfikację efektywnych genów odporności.

Tab. 6. Wyprowadzone stabilne izolaty *Puccinia coronata*.

Lp.	Nr izolatu	Miejscowość	Województwo	Rok
1	26	Śmiłowice	śląskie	2014
2	29	Chełm	lubelskie	2014
3	49	Białka	podkarpackie	2014
4	54	Cisów	podlaskie	2014
5	65	Piątnica	podlaskie	2014
6	71	Pasieki	lubelskie	2014
7	86	Polanowice	małopolskie	2014
8	87	Polanowice	małopolskie	2014
9	88	Polanowice	małopolskie	2014
10	93	Strzelce	łódzkie	2014
11	94	Strzelce	łódzkie	2014
12	95	Strzeżów	małopolskie	2014
13	107	Borzęcin	małopolskie	2014
14	118	Pacanów	świętokrzyskie	2014
15	119	Popowo	kujawsko-pomorskie	2014
16	120	Ryglice	małopolskie	2014
17	124	Stobierna	podkarpackie	2014
18	128	Wrzosowo	zachodniopomorskie	2014
19	132	Czesławice	lubelskie	2014
20	133	Kopaszewo	wielkopolskie	2014

### Wnioski:

1. Izolaty charakteryzujące się największą zjadliwością pochodzą z Polanowic i Czesławic i powinny być wykorzystywane do testowania nowych materiałów pod kątem odporności na rdzę koronową.
2. Konsekwencją wprowadzania odmian odpornych jest wywieranie presji selekcyjnej na populacje patogenu. Presja ta będzie skutkować pojawianiem się coraz bardziej zjadliwych izolatów.
3. W dotychczasowych badaniach nie zidentyfikowano izolatu, który przełamywałby odporność warunkowaną przez wszystkie dostępne geny odporności.

4. Liczba efektywnych genów możliwych do wykorzystania w hodowli jest całkiem duża. Najlepszymi genami są bezsprzecznie *Pc52* i *Pc91*, które warunkują zarówno odporność w stadium siewki, jak i rośliny dorosłej.
5. Biorąc pod uwagę ewolucję patogena, dobrym rozwiązaniem wydaje się piramidyzowanie genów o słabszych, ale trwalszych efektach.

### 3. 3. Ocena segregacji genów odporności w populacjach mapujących F<sub>2</sub> oraz analiza rozzszepień w pokoleniu F<sub>3</sub>.

#### Cel tematu badawczego 3

*Proszę podać cel (jak w szczegółowym opisie) i napisać, czy cel został osiągnięty, ew. w jakim stopniu; jeśli cel nie został osiągnięty w całości podać przyczyny.*

Przeprowadzenie krzyżowań mających na celu uzyskanie mieszańców pomiędzy formami ze zdefiniowanymi genami odporności, a formami nieodpornymi oraz wyprowadzanie populacji mapujących w celu identyfikacji blisko sprzężonych markerów dla genów odporności.

#### Wyniki

W krzyżowaniach wykorzystano 49 form matecznych oraz 29 form ojcowskich. Zapylono 5444 kwiatki w 522 wiechach uzyskując 1010 ziarniaków F<sub>1</sub> o zdefiniowanym pochodzeniu (Tab.7). Efektywność krzyżowania wyniosła średnio 19%. Od 0% dla *Pc35* do 55% dla *Pc39K* jako form matecznych. Zazwyczaj jako formy mateczne wykorzystywano linie *Pc* z uwagi na ich wcześniejsze kwitnienie w porównaniu z odmianami nieodpornymi. Uzyskane w efekcie krzyżowania ziarniaki reprezentują 121 kombinacji mieszańcowych (Tab. 8).

Ocenę fenotypową przeprowadzono dla 133 roślin F<sub>1</sub> – mieszańców pomiędzy odpornymi, a nieodpornymi odmianami i liniami owsa reprezentujących 58 kombinacji mieszańcowych (Tab. 9). Ocena odporności mieszańców w warunkach polowych jest prawdopodobnie mało wiarygodna z uwagi na lokalizację mieszańców w miejscu, w którym nawet odmiana kontrolna Kasztan nie wykazała większych objawów porażenia. Należy uznać, że mieszańce na których zaobserwowano niewielkie objawy infekcji w bardziej sprzyjających warunkach byłyby porażone w większym stopniu.

Tab. 7. Statystyka krzyżowań mających na celu uzyskanie mieszańców pomiędzy formami ze zdefiniowanymi genami odporności, a formami nieodpornymi.

Forma mateczna	Liczba zapylnych kwiatków	Liczba zawiązanych ziarniaków	Efektywność krzyżowania [%]	Forma mateczna	Liczba zapylnych kwiatków	Liczba zawiązanych ziarniaków	Efektywność krzyżowania [%]
Bingo	165	8	5	<i>Pc50U</i>	302	92	30
Bajka	48	17	35	<i>Pc50K</i>	79	12	15
Sławko	11	3	27	<i>Pc51U</i>	236	74	31
Szakał	54	11	20	<i>Pc52</i>	253	90	36
Kasztan	203	17	8	<i>Pc55</i>	25	8	32
Sam	14	3	21	<i>Pc56</i>	47	13	28
Rajtar	58	1	2	<i>Pc57</i>	212	25	12
Breton	77	11	14	<i>Pc58U</i>	106	1	1
Furman	20	2	10	<i>Pc59K</i>	125	25	20

Forma mączna	Liczba zapylnych kwiatków	Liczba zawiązanych ziarniaków	Efektywność krzyżowania [%]	Forma mączna	Liczba zapylnych kwiatków	Liczba zawiązanych ziarniaków	Efektywność krzyżowania [%]
<b>HiFi</b>	59	10	17	<b>Pc59U</b>	114	30	26
<b>Kanota</b>	77	5	6	<b>Pc60</b>	252	31	12
<b>Celer</b>	65	4	6	<b>Pc62</b>	99	1	1
<b>Pc14</b>	201	35	17	<b>Pc63</b>	126	17	13
<b>Pc35</b>	36	0	0	<b>Pc64</b>	82	6	7
<b>Pc36</b>	34	4	12	<b>Pc68</b>	229	84	37
<b>Pc38</b>	47	3	6	<b>Pc71</b>	201	30	15
<b>Pc39K</b>	11	6	55	<b>Pc91</b>	212	73	34
<b>Pc39U</b>	66	17	26	<b>Pc94K</b>	90	15	17
<b>Pc40K</b>	146	19	13	<b>Pc94U</b>	91	15	16
<b>Pc45</b>	31	3	10	<b>Pc96K</b>	164	14	9
<b>Pc46K</b>	28	1	4	<b>Pc96U</b>	107	8	7
<b>Pc48K</b>	154	64	42	<b>Pc98</b>	118	29	25
<b>Pc48U</b>	52	18	35	<b>Pc101</b>	156	9	6
<b>Pc50</b>	34	14	41	<b>Pc103</b>	155	2	1
				<b>Pc104</b>	172	30	17
				<b>SUMA</b>	<b>5444</b>	<b>1010</b>	<b>19</b>



Tab. 8. Uzyskane kombinacje mieszańców form odpornych z nieodpornymi.

Forma mateczna	Forma ojcowska																								Suma					
	Rajtar	Budrys	Breton	Arden	Kanota	Celer	Pc101	Pc104	Pc14	Pc39K	Pc39U	Pc48K	Pc50K	Pc51	Pc52	Pc58K	Pc59K	Pc59U	Pc60	Pc68	Pc71	Pc96	Pc96K	Bingo		Kasztan	Bajka	Slawko	Szakai	STH7309
Sam								3																						3
Rajtar							1																							1
Breton						2					4	3											2							11
Furman							2																							2
HiFi						8	2																							10
Kanota						4														1										5
Celer										4																				4
Pc101					2																			5	2					9
Pc103			1		1																									2
Pc104	7																							2	21					30
Pc14	1		7																					20	4		2	1		35
Pc36																									4					4
Pc38																									3					3
Pc39K						6																								6
Pc39U						4				13																				17
Pc40K																								2	17					19
Pc45																									3					3
Pc46K																									1					1
Pc48K	18	18																						27	1					64
Pc48U																								15	3					18
Pc50																								8				6		14
Pc50K					2																				4			6		12
Pc50U	8		14																					37	28			5		92
Pc51U					9																		2	42	14		4	3		74

Forma mateczna	Forma ojcowska																									Suma				
	Rajtar	Budrys	Breton	Arden	Kanota	Celer	Pc101	Pc104	Pc14	Pc39K	Pc39U	Pc48K	Pc50K	Pc51	Pc52	Pc58K	Pc59K	Pc59U	Pc60	Pc68	Pc71	Pc96	Pc96K	Bingo	Kasztan		Bajka	Sławko	Szakal	STH7309
Pc52	34																							21	29	6				90
Pc55																									8				8	
Pc56																								9	4				13	
Pc57					12																			3	1		9		25	
Pc58U																								1					1	
Pc59K			1																					14	10				25	
Pc59U	8		3																					10	9				30	
Pc60				4										1										1	22		3		31	
Pc62			1																										1	
Pc63																								12	5				17	
Pc64	4		1																					1					6	
Pc68	23		5	3																				12	41				84	
Pc71					2																			21	7				30	
Pc91	18						1		1											2		3	11	15		20	2	73		
Pc94K	3																								12				15	
Pc94U	5		2																						8				15	
Pc96K	2			2																				6	4				14	
Pc96U																								1	7				8	
Pc98	2																							12	15				29	
Bingo								2	1			2		3															8	
Kasztan							1	1				2			1	5	3	1	1				2						17	
Bajka															2			14					1						17	
Sławko														3															3	
Szakal									1									10											11	
Suma	133	18	35	9	28	10	16	8	6	13	4	4	7	1	8	1	5	3	25	1	3	2	8	293	302	6	35	24	2	1010

Ocenię porażenia w stadium siewki w warunkach laboratoryjnych poddano 138 linii F3 populacji E310 (Celer x STH 9210) (Tab. 10, Tab. 11). Na ich podstawie wytypowano homozygotyczne linie F2, które wykorzystano do identyfikacji markerów dla genów odporności. Przeprowadzona ocena była bardzo rygorystyczna, stąd wśród heterozygot można będzie na podstawie dalszych analiz zidentyfikować pozostałe homozygoty.

Tab. 10. Wyniki testu żywiciel-patogen na roślinach populacji F3 E310 (Celer x STH 9210)  
Na czerwono zaznaczono homozygoty nieodporne, zaś na zielono homozygoty odporne.

Lp.	Nr linii 310 F3	PoI 1	Dąbr. 2013	P4 2010
1	1	4	4	-
2	6	4	4	-
3	8	4	3	-
4	9	3	3	3
5	12	4	3	3
6	15	4	3	-
7	17	3	3	1
8	19	1	1	1
9	22	3	3	3
10	24	4	3	1
11	25	3	3	3
12	26	3	3	3
13	27	4	3	3
14	29	4	3	3
15	31	4	4	-
16	32	1	1	1
17	33	3	1	3
18	37	3	3	-
19	43	4	3	3
20	44	3	3	3
21	46	4	4	-
22	49	3	3	3
23	53	3	3	3
24	58	4	3	3
25	59	3	3	-
26	60	3	3	1
27	61	1	1	1
28	63	3	1	3
29	66	3	3	-
30	69	4	3	4
31	71	4	3	3
32	72	4	3	3
33	90	1	1	3
34	91	3	3	3
35	106	1	1	1
36	106	1	-	-
37	107	1	1	1
38	107	1	-	-
39	111	1	1	-
40	112	1	-	-
41	114	1	-	-
42	114	1	1	3
43	118	4	-	-
44	119	3	-	-
45	120	1	-	-
46	132	4	-	-
47	133	3	3	1
48	507	3	3	-
49	603	1	1	1
50	603	1	-	-
51	604	4	3	-
52	607	3	3	-
53	608	4	4	-
54	611	4	1	1
55	612	4	3	1
56	615	3	3	-
57	617	1	1	-
58	622	1	1	1
59	622	1	-	-
60	625	4	3	-
61	626	3	-	-
62	630	3	-	-
63	631	3	3	1
64	632	4	-	-
65	643	4	3	1
66	644	4	-	-
67	655	1	-	-
68	658	4	-	-
69	667	4	4	3
70	672	3	3	3
71	676	3	3	-
72	678	4	3	-
73	685	4	4	-
74	687	4	3	-
75	689	2	1	1
76	705	4	3	-
77	708	4	4	-
78	712	4	1	3
79	718	4	4	-
80	724	4	3	-
81	725	3	4	-
82	726	4	3	1
83	727	4	2	-
84	734	1	2	-
85	744	4	3	-
86	748	3	3	-
87	749	3	3	-
88	751	4	2	-
89	753	2	1	-
90	755	3	3	-
91	759	3	3	-
92	761	1	1	-
93	769	4	4	-
94	770	1	1	-
95	771	1	1	-
96	772	3	3	-
97	774	1	1	-
98	780	1	1	-
99	782	4	4	-
100	786	4	3	-
101	787	3	3	-
102	788	3	1	-
103	789	3	3	-
104	791	3	4	-
105	797	4	3	-
106	798	1	1	-
107	800	4	3	-
108	805	4	3	-
109	809	3	3	-
110	810	4	3	-
111	815	3	3	-
112	816	3	2	-
113	818	3	1	1
114	819	3	3	-
115	820	3	1	-
116	822	1	1	-
117	823	3	1	1
118	824	4	3	-
119	825	3	1	1
120	831	3	3	-
121	833	3	3	-
122	834	1	1	-
123	835	4	4	-
124	836	2	1	-
125	837	4	4	-
126	838	2	1	-
127	840	4	4	-
128	842	4	3	-
129	844	1	1	-
130	847	1	1	-
131	848	4	1	-
132	851	4	1	-
133	866	3	3	-
134	867	3	1	-
135	868	2	1	-
136	868	1	1	-
137	869	1	2	-
138	870	4	-	-

Tab. 11. Wyniki testu żywicieli-patogen powtórzone na potencjalnie homozygotycznych liniach populacji F3 E310 (Celer x STH 9210) na większej liczbie izolatów. Na czerwono zaznaczono homozygoty nieodporne, zaś na zielono homozygoty odporne.

Nr linii F3 310	Izolaty															
	Celer 2013		Kozłówka 2013			Dąbrowica P4 2010			Strzelce 2011		Biłgoraj 2013			Polanowice I 2010		
6	1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
19	1	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
32	1	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
33	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1
61	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
63	4	1	1	2	1	1	2	1	2	1	2	4	1	1	4	1
69	1	4	4	1	1	2	1	1	4	2	2	4	4	1	1	1
106	1	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
107	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
111	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
112	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
114	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
120	1	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
603	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
611	1	4	1	1	1	1	2	2	2	1	2	4	2	1	2	1
617	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
622	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
632	1	4	1	1	1	1	2	4	4	4	4	4	4	2	2	2
655	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
667	4	4	4	4	4	4	4	4	4	2	4	4	4	4	4	4
685	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
689	1	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
712	1	4	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1	4	1	2	1
734	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
761	1	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
769	4	4	1	1	2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
770	4	4	1	1	1	1	1	1	4	1	1	1	1		1	1
771	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
774	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
780	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
782	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
788	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1
798	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
822	1	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
823	1	4	1	1	1	2	2	1	1	2	1	1	2	4	4	4
825	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
834	1	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
835	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
837	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
840	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
844	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
847	1	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
869	1	4	1	1	1	1	1	1	1	4	1	1	2	1	2	1
820	4	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1
867	4	4	1	1	1	2	4	1	4	2	1	1	1	4	1	4

Linie ocenione wcześniej w warunkach laboratoryjnych poddano również ocenie w warunkach naturalnej infekcji polowej w Czesławicach. (Tab. 12).

Wyniki obserwacji laboratoryjnych i polowych porównano. Tylko w niewielu przypadkach odporność warunkowana genem *Pc39* identyfikowana w stadium siewki przekładała się na odporność rośliny dorosłej.

Tab. 12. Porównanie oceny porażenia linii F3 populacji E310 w warunkach naturalnej infekcji polowej oraz w teście laboratoryjnym. Na czerwono oznaczono homozygoty porażone, na zielono – odporne.

Lp.	Nr linii F3 populacji 310	Ocena porażenia w warunkach naturalnej infekcji polowej	Ocena w teście laboratoryjnym
1	1	P	P
2	3	O	-
3	6	H	P
4	8	P	H
5	9	H	H
6	12	H	H
7	15	P	H
8	17	H	H
9	18	O	-
10	19	O	O
11	22	O	H
12	24	O	H
13	25	O	H
14	26	H	H
15	27	O	-
16	28	O	H
17	30	O	H
18	31	H	P
19	32	O	O
20	33	O	H
21	34	O	-
22	36	O	-
23	37	H	H
24	39	O	-
25	41	O	-
26	43	O	H
27	44	H	H
28	46	P	P
29	49	H	H
30	52	O	-
31	53	H	H
32	54	O	-
33	56	O	-
34	58	P	H
35	59	H	H
36	60	H	H
37	61	O	O
38	63	O	H
39	66	H	H

Lp.	Nr linii F3 populacji 310	Ocena porażenia w warunkach naturalnej infekcji polowej	Ocena w teście laboratoryjnym
40	69	H	H
41	71	O	H
42	72	H	H
43	90	O	H
44	91	H	H
45	106	O	O
46	107	O	O
47	111	O	O
48	112	O	O
49	114	O	O
50	118	P	H
51	119	H	H
52	120	H	O
53	132	H	P
54	133	H	H
55	502	P	-
56	504	P	-
57	506	P	-
58	519	P	-
59	521	P	-
60	597	P	-
61	603	P	O
62	604	H	H
63	607	H	H
64	608	P	P
65	611	H	H
66	612	H	H
67	615	O	H
68	617	O	O
69	622	O	O
70	625	O	H
71	626	H	H
72	630	H	H
73	631	O	H
74	632	H	H
75	641	P	-
76	643	H	H
77	644	P	P
78	650	H	H

Lp.	Nr linii F3 populacji 310	Ocena porażenia w warunkach naturalnej infekcji polowej	Ocena w teście laboratoryjnym
79	655	O	O
80	658	P	P
81	667	P	P
82	672	H	H
83	676	H	H
84	678	H	H
85	682	P	H
86	685	P	P
87	687	P	H
88	689	O	O
89	692	P	-
90	705	H	H
91	706	P	-
92	708	H	H
93	710	P	-
94	712	H	H
95	718	H	P
96	724	P	P
97	725	H	H
98	726	H	H
99	727	H	P
100	734	O	O
101	744	P	P
102	748	H	H
103	749	H	H
104	751	H	H
105	753	O	H
106	754	P	-
107	755	H	H
108	759	H	H
109	761	O	O
110	769	H	P
111	770	H	O
112	771	O	O
113	772	H	H
114	774	O	O
115	780	O	O
116	782	P	P
117	787	H	H

Lp.	Nr linii F3 populacji 310	Ocena porażenia w warunkach naturalnej infekcji polowej	Ocena w teście laboratoryjnym
118	788	O	H
119	789	O	H
120	791	H	H
121	792	H	H
122	797	H	H
123	798	O	H
124	800	H	H
125	805	H	H
126	807	H	H
127	809	H	H
128	810	P	H
129	815	H	H
130	816	H	H
131	818	H	H
132	819	H	H
133	820	H	H
134	822	O	O
135	823	H	H
136	824	H	H
137	825	H	O
138	831	H	H
139	833	H	H
140	834	O	O
141	835	P	P
142	836	O	H
143	837	P	P
144	838	H	H
145	840	H	P
146	842	H	H
147	844	O	O
148	846	P	-
149	847	O	O
150	848	H	H
151	851	H	H
152	866	H	H
153	867	H	H
154	868	H	H
155	869	O	O
156	870	H	P

## Wnioski

1. Na podstawie przeprowadzonych testów wytypowano 26 homozygotycznych linii odpornych, zawierających gen *Pc39* oraz 20 homozygot wrażliwych – nie posiadających genu *Pc39*.
2. Z uwagi na dominujący charakter genu i dziedziczenie jednogenowe wśród domniemanych heterozygot pozostają niezidentyfikowane homozygoty, gdyż ich udział w populacji 138 osobników powinien wynosić łącznie ok. 50%.
3. Zidentyfikowane homozygoty są idealnym materiałem do poszukiwania markerów genetycznych dla genu odporności *Pc39*.

### 3. 4. Genotypowanie form rodzicielskich i mieszańców F<sub>2</sub> homozygotycznych pod względem odporności na rdzę koronową.

#### Cel tematu badawczego 4

Genotypowanie form rodzicielskich i mieszańców F<sub>2</sub> homozygotycznych pod względem odporności na rdzę koronową w celu identyfikacji potencjalnych markerów dla genu odporności obecnego w odmianie Celer (prawdopodobnie *Pc39*).

#### Wyniki

W celu identyfikacji potencjalnych markerów dla genu odporności obecnego w odmianie Celer przeprowadzono analizę PCR-RAPD na wytypowanych homozygotycznych pod względem tego genu roślinach F<sub>2</sub> populacji E310 (Celer x STH 9210). Reakcję przeprowadzono na próbach zbiorczych odpornych i nieodpornych roślin populacji F<sub>2</sub> E310, które przygotowano zgodnie z metodą BSA (Bulk Segregant Analysis).

Do testowania wykorzystano 520 starterów RAPD z zestawów Operon Technologies:

A1-A20, B1-B20, C1-C20, D1-D20, E1-E20,  
F1-F20, G1-G20, H1-H20, I1-I20, J1-J20,  
K1-K20, L1-L20, M1-M20, N1-N20, O1-O20,  
P1-P20, Q1-Q20, R1-R20, S1-S20, T1-T20,  
U1-U20, V1-V20, W1-W20, X1-X20, Y1-Y20, Z1-Z20.

Wykorzystano również startery z serii UBC z University of British Columbia:

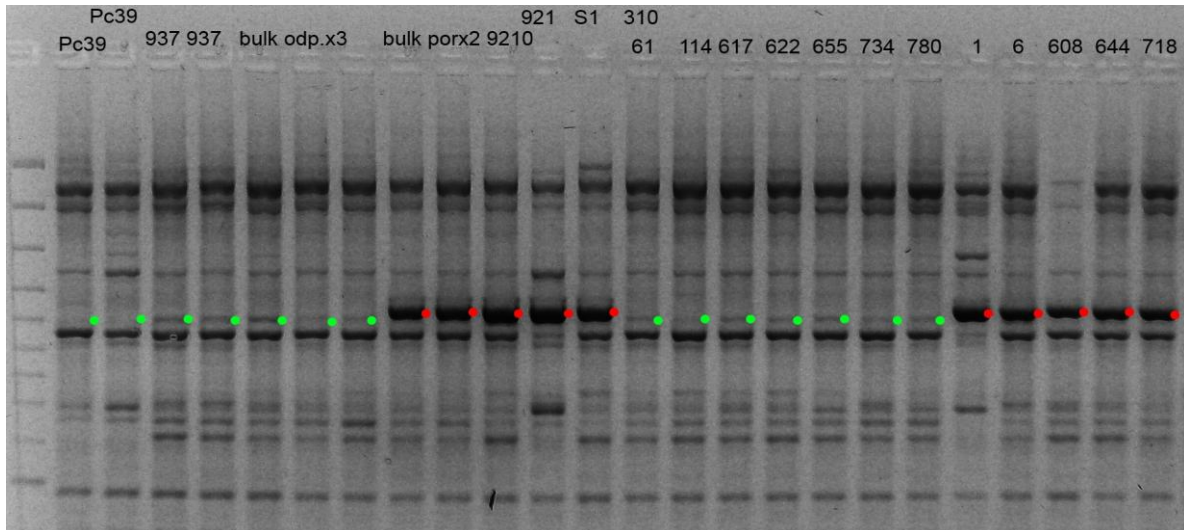
U136, U197, U220, U221, U250, U254,  
U280, U287, U295, U306, U386, U532,  
U534, U535, U552, U575, U600.

Dla większości starterów nie uzyskano produktów różnicujących (Fot. 1). Niemniej jednak dla 20 z nich zaobserwowano potencjalne produkty różnicujące próby zbiorcze form odpornych i porażonych (Tab. 13).

Tab. 13. Potencjalnie różnicujące produkty amplifikowane przy udziale starterów RAPD.

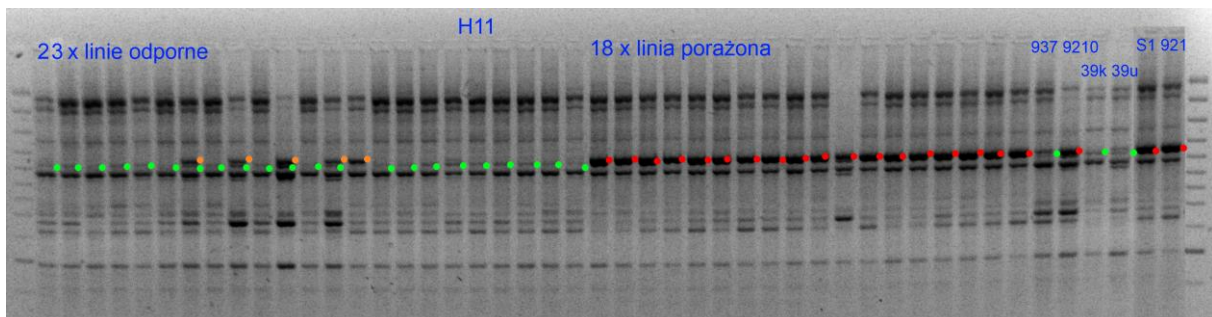
Lp.	Starter	Wielkość produktu (pz)	Lp.	Starter	Wielkość produktu (pz)
1	A2	1200 pz	11	Q19	1300 pz
2	C13	900 pz	12	W19	850 pz
3	D15	1100 pz	13	S10	1500 pz
4	F5	800 pz	14	T1	1200 pz
5	G12	800 pz	15	V15	1300 pz
6	H11	1000 pz, 1050 pz	16	U10	520 pz
7	L2	600 pz	17	U254	1000 pz
8	K10	700 pz	18	W16	1000 pz
9	K14	500 pz	19	Y9	1500 pz
10	E9	900 pz	20	Q15	600 pz

W celu weryfikacji czy potencjalne markery H11, L2, K14, U10, E9, K10, Q15, Q19, W19 są sprzężone z genem odporności przeprowadzono reakcję RAPD dla wytypowanych starterów z DNA homozygotycznych, wybranych losowo roślin F2 zgodnie z metodyką reakcji na próbach zbiorczych.



Fot. 4 Amplifikacja dla startera H11. Zgodność amplifikacji z obecnością lub brakiem genu *Pc39*.

Zastosowanie matryc pojedynczych homozygotycznych roślin F2 odpornych i wrażliwych wyeliminowało wszystkie potencjalne startery z wyjątkiem H11 (Fot. 3, 4). Starter ten inicjuje amplifikację dwóch produktów różnicujących. Mniejszego o masie 1000 pz charakterystycznego dla form niskich oraz większego 1050pz, ulegającego bardzo intensywnej amplifikacji u form wrażliwych. W celu weryfikacji czy potencjalny marker jest sprzężony z genem odporności *Pc39* przeprowadzono reakcję RAPD dla wytypowanego startera z DNA homozygotycznych roślin F<sub>2</sub> z populacji E310, zgodnie z metodyką reakcji na próbach zbiorczych (Fot. 5).



Fot.5. Produkty uzyskane w wyniku amplifikacji DNA wybranych homozygot odpornych i nieopornych na rdzę koronową w obrębie populacji 310 przy użyciu startera H-1. Genotypy z dodatkowym prążkiem oznaczonym na pomarańczowo: 7 – 310/120; 9 – 310/617; 11 – 310/655; 13 – 310/734; 14 – 310/761

Do genotypowania metodą DArTseq wytypowano 20 odpornych roślin homozygotycznych, 20 homozygotycznych porażonych roślin oraz formy rodzicielskie populacji E310. Wśród produktów sekwencjonowania DArT-SNP oraz silicoDArT poszukiwano sekwencji specyficznych dla form odpornych – potencjalne markery dla genu odporności obecnego w odmianie ‘Celer’. Zidentyfikowano 13 sekwencji DArTseq (Tab. 14) oraz 31 silicoDArT (tab. 15).



Tab. 14. Sekwencje DArTseq segregujące w homozygotycznych liniach populacji E310 zgodnie z genem odporności *Pc39*. Na niebiesko zaznaczono sekwencję typowego SNP. Na czerwono i żółto sekwencje nietypowych SNP, na zielono sekwencje segregujące podobnie jak markery dominujące.

Sekwencja DArTseq	Linie odporne															Linie wrażliwe															♂	♀															
	310_825	310_844	310_847	310_734	310_774	310_32	310_61	310_107	310_111	310_112	310_114	310_120	310_617	310_622	310_655	310_689	310_770	310_771	310_780	310_822	310_1	310_835	310_840	310_870	310_632	310_685	310_718	310_31	310_46	310_6	310_132	310_608	310_644	310_658	310_667	310_724	310_727	310_744	310_769	310_782	9210	9210	Celer	Celer			
3282731 F 0--44:G>A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	
3282731 F 0-44:G>A-44:G>A	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	
3457217 F 0--22:T>C	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1		
3457217 F 0-22:T>C-22:T>C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0		
3458005 F 0--25:G>T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	1	1	1	1	1	1	1	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	1	1	0	0			
3458005 F 0-25:G>T-25:G>T	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	1	1		
3459473 F 0--46:A>G	-	0	0	0	0	-	-	0	0	-	-	0	0	0	0	-	-	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0		
3459473 F 0-46:A>G-46:A>G	-	1	1	1	1	-	-	1	1	-	-	1	1	1	1	-	-	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1		
3456430 F 0--54:T>A	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	-	0	1	1	
3456430 F 0-54:T>A-54:T>A	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	-	1	1	1	1	1	1	1	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	1	1	-	1	1	1		
3457355 F 0--11:T>C	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
3457355 F 0-11:T>C-11:T>C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0		
3457455 F 0--54:C>A	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	
3457455 F 0-54:C>A-54:C>A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	
3457685 F 0--51:A>T	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	
3457685 F 0-51:A>T-51:A>T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	
3457768 F 0--68:A>C	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3457768 F 0-68:A>C-68:A>C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
3458768 F 0--42:C>G	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1
3458768 F 0-42:C>G-42:C>G	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
3459167 F 0--46:A>G	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	-	1	1	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	1	1	1	1	1	
3459167 F 0-46:A>G-46:A>G	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	1	1		
3457810 F 0--52:C>A	-	0	0	0	-	-	-	0	-	-	-	-	-	0	-	0	0	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-	1	1	1	1	1	1	-	1	1	1	1	-	-	-	-		
3459357 F 0-55:G>C-55:G>C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0



Spośród wytypowanych do konwersji na markery ASA i STS sekwencji segregujących zgodnie z genotypem roślin F2 przewidzianym na podstawie fenotypu linii F3 wybrano tylko jedną sekwencję DArT-SNP 3458005 w celu sprawdzenia poprawności predykcji genotypów. Wytypowana sekwencja jako jedyna wykazała typowy sposób segregacji tzn. homozygoty recesywne i dominujące posiadały tylko po jednym allelu danej sekwencji.

Zaprojektowano 3 startery:

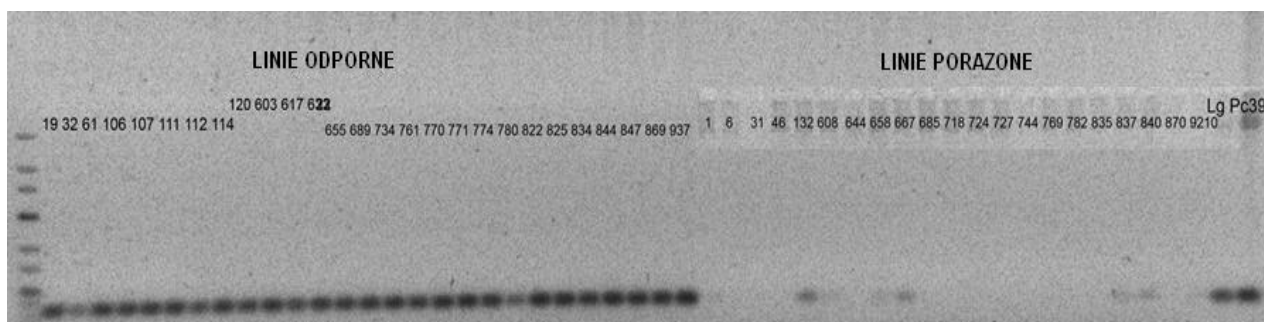
Forward primer F1\_LN2 GCTAATTTCTGCGTTTTCTATT

Forward primer F2\_LN2 GCTAATTTCTGCGTTTTCTATG

Reverse primer R GATATGTCATAACATGTAAAATCC

Zmodyfikowano nukleotydy w pozycjach SNP.

W wyniku przeprowadzonej amplifikacji uzyskano produkt charakterystyczny dla wszystkich form odpornych oraz dla linii Pc39 oraz odmiany Leggett zawierającej gen Pc39. Niestety druga para starterów, która prowadziłaby do inicjacji amplifikacji sekwencji u form porażonych, co umożliwiłoby rozróżnienie homozygot dominujących od heterozygot w warunkach standardowego PCR nie dała pozytywnego wyniku.



Fot.5. Produkty uzyskane w wyniku amplifikacji DNA wybranych homozygot odpornych i nieopornych na rdzę koronową w obrębie populacji 310 przy użyciu pary starterów zaprojektowanych do sekwencji DArT-SNP 3458005.

## Wnioski

1. Metoda RAPD umożliwia identyfikację potencjalnych markerów dla genów odporności. Wymaga jednak konwertowania produktów reakcji do warunków specyficznego PCR.
2. Stosując amplifikację ze starterem H11 zidentyfikowano dwa segregujące fragmenty DNA. Pierwszy o wielkości 1000 pz charakterystyczny dla homozygot odpornych oraz drugi 1050 pz (dużo silniejszy) charakterystyczny dla form nieodpornych. Marker o większej masie nie w pełni segreguje wraz z cechą, co oznacza, że znajduje się w pewnej odległości od genu. Ewentualnie wskazuje na niedoskonałość testu fizjologicznego, w którym mylnie zakwalifikowano heterozygoty jako homozygoty.
3. W wyniku amplifikacji przeprowadzonej przy zastosowaniu specyficznych starterów zaprojektowanych dla sekwencji DArT-SNP 3458005 uzyskano produkt charakterystyczny dla wszystkich form odpornych, nieobecny u form porażonych. Niestety sekwencja ta może zostać wykorzystana tylko jako marker dominujący.
4. Ilość sekwencji DArTseq i silicoDArT, które być może stanowią potencjalne markery dla genu *Pc39*, jest bardzo duża i pozwala wnioskować, że możliwe będzie opracowanie starterów specyficznych o charakterze kodominującym.
5. Markery allelospecyficzne zaprojektowane w oparciu o sekwencje DArTseq są niezbędne w efektywnej hodowli odpornościowej i piramidyzacji genów.