

**SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE****z realizacji zadania na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w 2015 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 8 do rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 29 lipca 2015 r. w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa (Dz. U. z 14 sierpnia 2015 r. poz. 1170)) <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
Edyta Paczos-Grzęda	dr	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin
wykonawcy zadania		
imię i nazwisko	stopień i tytuł naukowy	miejsce zatrudnienia
Aneta Koroluk	mgr inż.	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin
Krzysztof Kowalczyk	prof. dr hab.	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin
Adam Kuzdrałiński	dr inż.	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Katedra Biotechnologii, Żywienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności
Justyna Leśniowska- Nowak	dr inż.	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin
Michał Nowak	dr inż.	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin
Sylwia Okoń	dr inż.	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin

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 <sup>1</sup> /częściowo <sup>1</sup> )
1	Określenie patogeniczności izolatów <i>Puccinia coronata</i> skolekcjonowanych w roku 2014 w różnych obszarach kraju.	TAK
2	Wyprowadzenie izolatów z populacji rdzy koronowej skolekcjonowanych na obszarze kraju w roku 2015.	TAK
3	Wyprowadzenie populacji mapujących dla wybranych efektywnych genów odporności.	TAK
4	Opracowanie markerów dla genu odporności <i>Pc39</i> .	TAK

### 2. Harmonogram realizacji zadania

Harmonogram realizacji zadania należy sporządzić w tabeli, dla każdego z planowanych tematów badawczych z uwzględnieniem ilości planowanych testów/prób/linii na których prowadzone będą badania. Proszę podać koszty realizacji poszczególnych tematów badawczych.

Proszę wyróżnić etapy (tematy badawcze), określić czas ich trwania w miesiącach od rozpoczęcia projektu i przewidywane koszty. Terminy realizacji tematów badawczych mogą się zająć. Suma kosztów tematów badawczych musi być równa całkowitemu kosztowi zadania.

Lp.	Nazwa tematu badawczego	Termin rozpoczęcia – zakończenia realizacji tematu badawczego w miesiącach od rozpoczęcia realizacji zadania	Przewidywane koszty realizacji tematu badawczego
1	Określenie spectrum patogeniczności izolatów <i>Puccinia coronata</i> . (obejmuje tematy badawcze 1 i 2 planu wieloletniego)	1-12	22 000
2	Ocena segregacji genów odporności w populacjach mapujących F <sub>2</sub> .	4-12	30 000
3	Genotypowanie form rodzicielskich i mieszańców z wykorzystaniem metod RAPD i RGA. (obejmuje tematy badawcze 5 i 6 planu wieloletniego)	1-12	28 000
<b>Razem</b>			<b>80000</b>

UWAGA: Nie są tematami badawczymi czynności techniczne służące wykonaniu zadania np. zakup materiałów, utrzymanie roślin w szklarni, opracowanie statystyczne wyników, opracowanie raportów i sprawozdań.

<sup>1</sup> Jeśli dotyczy – proszę opisać pod tabelą, w jakim stopniu cel został osiągnięty i podać przyczyny

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

**3. 1. Określenie spectrum patogeniczności izolatów *Puccinia coronata*.**

**Cel tematu badawczego 1**

- \* Utrzymanie kolekcji 35 linii izogenicznych dla genów odporności na rdzę koronową owsa.
- \* Określenie patogeniczności izolatów *Puccinia coronata* wyprowadzonych z populacji skolekcjonowanych w roku 2014 w różnych obszarach kraju.
- \* Ocena reakcji linii referencyjnych posiadających zdefiniowane geny odporności w warunkach naturalnej infekcji polowej.
- \* Poszerzanie kolekcji izolatów *Puccinia coronata*.

**Materiały i metody**

Rozmnożeniu w warunkach polowych, z zachowaniem izolacji, poddano 35 linii referencyjnych (Tab.1). Po 10 ziarniaków z każdej linii wysiano w rzędach długości 1m. W okresie poprzedzającym pylenie roślin na pojedyncze wiechy (3-5) nałożono izolatory z tomafanu. Po osiągnięciu pełnej dojrzałości wiechy zebrano i omłócono (z każdego izolatora osobno). Uzyskane ziarniaki poszczególnych linii referencyjnych wykorzystywano do określania patogeniczności testowanych izolatów.

Tab.1. Testowane linie owsa zawierające geny odporności na rdzę koronową.

<i>Gen</i>	Źródło genu	Linia
<i>Pc14</i>	Ascencao	
<i>Pc35</i>	<i>A. sterilis</i> D-137	
<i>Pc36</i>	<i>A. sterilis</i> CI 8081	
<i>Pc38</i>	<i>A. sterilis</i> CW491-4	Pendek × <i>Pc38</i>
<i>Pc39</i> Kan	<i>A. sterilis</i> F-366	Pendek × <i>Pc39</i>
<i>Pc40</i> USA	<i>A. sterilis</i> F-83	Pendek × <i>Pc40</i>
<i>Pc45</i>	<i>A. sterilis</i> F-169	Pendek × <i>Pc45</i>
<i>Pc46</i> Kan	<i>A. sterilis</i> F-290	Pendek × <i>Pc46</i>
<i>Pc48</i> Kan	<i>A. sterilis</i> F-158	Pendek × <i>Pc48</i>
<i>Pc50</i> Kan	<i>A. sterilis</i> CW-486	
<i>Pc50</i> USA	<i>A. sterilis</i> CW-486	
<i>Pc51</i> Kan	<i>A. sterilis</i> Wahl No. 8	
<i>Pc51</i> USA	<i>A. sterilis</i> Wahl No. 8	Iowa isolines X270 & X434
<i>Pc52</i>	<i>A. sterilis</i> Wahl No. 2	Iowa isoline X421
<i>Pc54</i>	<i>A. sterilis</i> CAV 1832	Pendek × <i>Pc54</i>
<i>Pc55</i>	<i>A. sterilis</i> CAV 4963	Pendek × <i>Pc55</i>
<i>Pc56</i>	<i>A. sterilis</i> CAV 1964	Pendek × <i>Pc56</i>
<i>Pc57</i>	<i>A. sterilis</i> CI 8295	
<i>Pc58</i> USA	<i>A. sterilis</i> PI 295919	TAM-O-301
<i>Pc59</i> USA	<i>A. sterilis</i> PI 296244	TAM-O-312
<i>Pc60</i>	<i>A. sterilis</i> PI 287211	Coker 227

<i>Gen</i>	<i>Źródło genu</i>	<i>Linia</i>
<i>Pc62</i>	<i>A. sterilis</i> CAV 4274	Fraser <i>Pc62</i>
<i>Pc64</i>	<i>A. sterilis</i> CAV 4248	Makuru//Sun II <i>Pc64</i>
<i>Pc67</i>	<i>A. sterilis</i> CAV 4656	Makuru//Sun II <i>Pc67</i>
<i>Pc68</i>	<i>A. sterilis</i> CAV 4904	Makuru//Sun II <i>Pc68</i>
<i>Pc70</i>	<i>A. sterilis</i> PI318282	
<i>Pc71</i>	<i>A. sterilis</i> IA B437	
<i>Pc91</i>	<i>A. magna</i>	<i>A. magna</i> x <i>A. longiglumis</i>
<i>Pc94</i> Kan	<i>A. strigosa</i> RL1697	
<i>Pc96</i> USA	<i>A. sativa</i>	
<i>Pc97</i> Kan	-	
<i>Pc98</i> Kan	-	
<i>Pc101</i> Kan	-	
<i>Pc103-1</i> Kan	-	
<i>Pc104</i> Kan	-	

W celu określenia patogeniczności 20 izolatów *Puccinia coronata*, wyprowadzonych z populacji skolekcjonowanych w roku 2014 w różnych obszarach kraju (Tab.2), na liściach siewek trzydziestu pięciu linii kontrolnych o zdefiniowanych genach odporności przeprowadzono testy żywiciel-patogen. Ziarniki testowanych linii wysiano na paletach w fitotronie. Fragmenty liści 10-dniowych siewek wyłożono na szalki Petriego wypełnione do połowy 0,6% roztworem agaru z benzimidazolem (35 mg•dm<sup>-3</sup>). Każda z linii została przetestowana w trzykrotnym powtórzeniu, a wynik został uśredniony. Na każdą szalkę wyłożono również fragmenty liści formy kontrolnej: cv. Kasztan (forma podatna na porażenie wszystkimi testowanymi izolatami). Szalki z fragmentami liści inokulowano w wieży inokulacyjnej ok. 500-700 zarodnikami rdzy koronowej na 1 cm<sup>2</sup>. Następnie szalki zostały umieszczane w fitotronie, w temperaturze ok. 18°C przy natężeniu światła ok. 4 kLx i wilgotności powietrza wynoszącej 70%. Po dziesięciu dniach od inokulacji określono porażenie liści w skali 5° wg Murphy (1935), gdzie 0 oznacza brak kolonii z występującymi zmianami nekrotycznymi i chlorotycznymi, 1 - małe kolonie otoczone zmianami nekrotycznymi i chlorotycznymi, 2 – małe i średnie kolonie otoczone zmianami chlorotycznymi, 3 – średnie kolonie ze zmianami chlorotycznymi, 4 – duże kolonie bez zmian nekrotycznych i chlorotycznych.

W celu określenia odporności na rdzę koronową 35 linii referencyjnych o zdefiniowanych genach odporności w warunkach naturalnej infekcji polowej zostały założone metodą bloków losowanych jednopowtórzeniowe eksperymenty polowe w czterech lokalizacjach:

- Gospodarstwie Doświadczalnym UP w Lublinie, w Czesławicach k/Nałęczowa.
- Hodowli Roślin Strzelce Sp. z o.o. w Strzelcach
- DANKO Hodowli Roślin Sp. z o.o. w Kopaszewie
- Małopolskiej Hodowli Roślin Sp. z o.o. w Polanowicach.

Siew wykonano na przełomie marca i kwietnia. Na poletka o długości 1m i szerokości 0,6 metra wysiano po 50 ziarników każdej linii. Rozstawa rzędów wyniosła 20cm. W początkowym okresie wegetacji przeprowadzono oprysk pielęgnacyjny herbicydem, a w fazie strzelania w źdźbło - oprysk insektycydem. Ocenę porażenia przez rdzę koronową w warunkach naturalnej infekcji polowej przeprowadzono dwukrotnie w trakcie wegetacji. Typ

infekcji został określony poprzez dokonanie wizualnej oceny liści zgodnie ze skalą 0–9 (McNeal i in. 1971), w której 0 oznacza całkowitą odporność, zaś 9 – silne porażenie.

W Czesławicach, Polanowicach, Kopaszewie i Strzelcach z losowo wybranych poletek zostały zebrane populacje *Puccinia coronata*. W trakcie czterokrotnych pasażów pojedynczych kolonii grzyba wyprowadzono po 10 izolatów *Puccinia coronata* z każdej lokalizacji. Wyprowadzanie izolatów polegało na zakażeniu wyłożonych na szalkę Petriego wypełnioną do połowy 0,6% roztworem agaru z benzimidazolem ( $35 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) liści odmiany ‘Kasztan’ zarodnikami pobranymi sterylną, szklaną pipetką z pojedynczej kolonii grzyba. Czterokrotne rozmnożenie grzyba z pojedynczej kolonii gwarantowało jednorodność uzyskanego izolatu. Utrzymanie izolatu wymagało przeszczepiania na kolejne świeże liście rośliny żywicielskiej co 10 dni. W kolejnym roku badań uzyskane izolaty zostaną ocenione pod względem spektrum patogeniczności.

Tab.2. 20 izolatów rdzy koronowej skolekcjonowanych na terenie Polski i użytych do testowania linii z genami odporności.

Nr	Oznaczenie IGHIBR	Miejscowość	Województwo
1	65 1/4	Piątnica	podlaskie
2	79 1/3	Śmiłowice	śląskie
3	82 1/2	Łęczna	lubelskie
4	86 1/2	Polanowice	małopolskie
5	90 1/4	Puławy	lubelskie
6	91 1/2	Ryki	lubelskie
7	94 1/4	Strzelce	łódzkie
8	95 1/3	Strzeżów	małopolskie
9	97 2/3	Szymanówka	świętokrzyskie
10	100 1/4	Żyrzyn	lubelskie
11	106 1/4	Nowy Besk	lubelskie
12	119 1/4	Popowo	kujawsko-pomorskie
13	120 1/4	Ryglice	małopolskie
14	123 1/2	Solec nad Wisłą	mazowieckie
15	124 1/2	Stobierne	podkarpackie
16	126 1/4	Sufczyn	małopolskie
17	128 1/3	Wrzosowo k. Kołobrzegu	zachodniopomorskie
18	130 2/3	Dąbrowica	lubelskie
19	132 1/4	Czesławice	lubelskie
20	133 2/3	Kopaszewo	wielkopolskie

## Wyniki

Spośród skolekcjonowanych w 2014 roku 20 izolatów rdzy koronowej na podstawie testów żywiciel-patogen największą zjadliwością wykazały się te zebrane w Czesławicach, Strzelcach, Sufczyni i Puławach (Rys. 2). Jako najbardziej wirulentne mogą być z powodzeniem stosowane do testowania materiałów pod kątem ich odporności na rdzę koronową.

Wśród testowanych 35 linii referencyjnych o zdefiniowanych genach odporności w stadium siewki najsilniej porażone były *Pc103-1* Kan i *Pc38* (Tab. 3). Odporność tych linii została przełamana przez odpowiednio 16 i 15 spośród testowanych izolatów. Pełną odpornością w testach na młodych liściach w warunkach laboratoryjnych wykazały się z kolei linie: *Pc50* USA, *Pc52*, *Pc60*, *Pc71*, *Pc91* (Rys. 1). Pojedyncze spośród badanych izolatów przełamały odporność linii: *Pc51* USA, *Pc70* i *Pc94* Kan, zaś po trzy izolaty przełamały odporność linii *Pc50* Kan, *Pc51* Kan, *Pc58* USA, *Pc59* USA i *Pc68*.

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 Strzelcach 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 Kopaszewie.

W Polanowicach i Strzelcach porażonych było odpowiednio 9 i 6 spośród 46 testowanych linii. Niemniej jednak porażenie w tych lokalizacjach było znikome i nierównomierne, co uniemożliwiło dokładną ocenę. Za porażone uznano linie z objawami choroby ocenionymi na 1, co świadczy o wystąpieniu sporadycznych kolonii *Puccinia coronata*. W doświadczeniu założonym w Czesławicach porażonych było aż 40, czyli ok. 87% linii. Przeprowadzona ocena pozwala uznać za najbardziej efektywne w warunkach naturalnej infekcji polowej, w stadium rośliny dorosłej geny: *Pc36*, *Pc51* Kanada, *Pc52*, *Pc57*, *Pc71* i *Pc101*. Inne wartościowe w stadium rośliny dorosłej geny to: *Pc14*, *Pc50* Kanada, *Pc51* USA, *Pc53*, *Pc58* USA, *Pc59* USA, *Pc59* Kanada, *Pc60*, *Pc62*, *Pc63*, *Pc70*, *Pc91*, *Pc94* USA, *Pc94* Kanada i *Pc97*. Spośród wymienionych *Pc52*, *Pc60*, *Pc71* i *Pc91* były całkowicie odporne w stadium siewki.

W 4 miejscowościach (Czesławice, Polanowice, Strzelce, Kopaszewo) pobrano zarodniki grzyba z 10 różnych lokalizacji, w celu wyprowadzania nowych izolatów. W trakcie czterokrotnych pasażów pojedynczych kolonii grzyba wyprowadzono po 10 izolatów *Puccinia coronata* z każdej lokalizacji. W kolejnym roku badań uzyskane izolaty zostaną ocenione pod względem spektrum patogeniczności.

## Dyskusja

Grzyby z rodzaju *Puccinia* spp. porażają zboża oraz trawy. Są to bezwzględne pasożyty rozwijające się w żywych tkankach roślinnych. Grzyby te wywołują rdze zbóż, które są zaliczane do najbardziej szkodliwych chorób ograniczających plonowanie. Głównymi chorobami występującymi w owsie są rdza koronowa powodowana przez grzyb *Puccinia coronata* f.sp. *avenae*, mączniak prawdziwy wywołwany przez *Blumeria graminis* f.sp.

*avenae* oraz fuzariozy powodowane przez różne gatunki *Fusarium* (Simons 1980). W warunkach naszego kraju najpowszechniej występującą chorobą grzybową owsa jest rdza koronowa. Rdza koronowa owsa to choroba powodowana przez patogena *Puccinia coronata* Cda. f.sp. *avenae* Erikss należącego do gromady *Basidiomycota*, klasy *Teliomycetes*, rzędu *Uredinales* (Kryczyński, 2010). Spotykana jest na owsie we wszystkich rejonach jego uprawy (Fiedorow i in., 2008). Z największym nasileniem występuje na obszarze centralnej i południowo-wschodniej Europy (Sebesta i in., 2003). W przypadku występowania tej choroby na dużą skalę straty w plonach ziarna sięgają 50%, a okres wegetacji roślin skraca się o nawet 4–6 tygodni (Kryczyński, 2010). Silne porażenie owsa następuje szczególnie podczas opóźnionego siewu i z tego powodu owies nie jest wysiewany w mieszkankach poplonowych (Fiedorow i in., 2008).

Naturalna odporność owsa na rdzę koronową warunkowana jest genami *Pc* (Górny, 2005). Niestety zdolność patogenu do wytwarzania nowych ras fizjologicznych przełamujących tę odporność jest bardzo duża (Leonard, Szabo, 2005). Istnieje wiele metod walki z patogenem, lecz najlepszą wydaje się poszukiwanie skutecznych źródeł odporności i wprowadzanie ich do hodowli odmian odpornych. Do tej pory opisano ponad 100 genów odporności na różne rasy fizjologiczne *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* (Gnanesh i in. 2014). Geny te pochodzą głównie z czterech źródeł: *A. byzantina*, *A. sativa*, *A. sterilis*, jak również z diploidalnego gatunku *A. strigosa* (Aung i in., 1977).

Całkowita odporność na określoną rasę rdzy koronowej jest zazwyczaj cechą dominującą warunkowaną monogenicznie. W warunkach europejskich do niedawna efektywne były pochodzące od *A. sterilis* geny *Pc50*, *Pc60* i *Pc61*. Jednocześnie stwierdzono już wirulencję w stosunku do najefektywniejszych dotychczas w Europie genów *Pc39* i *Pc68* (Sebesta i in. 2003). Z obserwacji własnych wynika, że dotychczas w warunkach Polski nie zostały przełamane geny *Pc52*, *Pc59*, *Pc60* oraz *Pc91*. Z wyjątkiem genu *Pc91*, żaden z pozostałych nie był wykorzystywany na szerszą skalę w programach hodowlanych. Nie są dostępne również bardziej szczegółowe informacje na temat sposobu dziedziczenia tych genów lub markerów dla tych genów.

W warunkach naturalnej infekcji polowej na przestrzeni kilku ostatnich lat jedynie odmiana Celer wykazywała całkowitą odporność na *Puccinia coronata*, zaś pozostałe polskie odmiany charakteryzowało różne natężenie wrażliwości na ten patogen (Paczos-Grzęda i in. 2014). Niestety od kilku lat obserwuje się porażenie odmiany Celer w różnych rejonach kraju. Na podstawie rodowodu odmiany Celer można stwierdzić, że dawcą genu odporności jest *A. sterilis*. Prawdopodobnie jest to gen *Pc39*, jednakże reakcja odmiany Celer na porażenie niektórymi izolatami jest nieznacznie różna, aniżeli linii izogenicznej zawierającej ten gen oraz zagranicznych odmian z tym genem. Z uwagi na brak efektywnych genów odporności w polskich odmianach celem jest ich wprowadzanie z linii referencyjnych lub odmian zagranicznych oraz ich piramidyzowanie.

## Wnioski

1. Pełną odporność w testach na młodych liściach w warunkach laboratoryjnych wykazały linie: *Pc50* USA, *Pc52*, *Pc60*, *Pc71*, *Pc91*.
2. Pojedyncze spośród badanych 20 izolatów przełamały odporność linii: *Pc51* USA, *Pc70* i *Pc94* Kan.
3. Największą zjadliwością w przeprowadzonym teście wykazały się izolaty wyprowadzone z populacji skolekcjonowanych w Czesławicach, Strzelcach, Sufczyńie i Puławach.
4. W roku 2015 w doświadczeniach polowych największe porażenie badanych linii kontrolnych obserwowano w Czesławicach, mniejsze w Polanowicach, zaś najmniejsze



w Kopaszewie. W Strzelcach nie zaobserwowano objawów infekcji grzybem *Puccinia coronata*.

5. Przeprowadzona ocena pozwala uznać za najbardziej efektywne w warunkach naturalnej infekcji polowej, w stadium rośliny dorosłej geny: *Pc36*, *Pc51* Kan, *Pc52*, *Pc57*, *Pc71* i *Pc101*.
6. Z uwagi na brak efektywnych genów odporności w polskich odmianach celowym jest ich wprowadzanie z linii referencyjnych lub odmian zagranicznych oraz ich piramidowanie.

## Literatura

1. Aung T., Thomas H., Jones I.T. 1977. The transfer of the gene for mildew resistance from *Avena barbata* (4x) into the cultivated oat *A. sativa* by an induced translocation. *Euphytica*, 26: 623–632
2. Fiedorow Z., Gołębiak B., Weber Z. 2008. Choroby roślin rolniczych. Wydawnictwo Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego, Poznań.
3. Gnanesh B. N., Fetch J. M., Zegeye T., McCartney C. A., Fetch T. 2014. Alien gene transfer in crop plants, Chapter 3 Oat: 51 – 73.
4. Górny A. G. 2005. Zarys genetyki zbóż. Instytut Genetyki Roślin PAN, Poznań
5. Kryczyński S. 2010. Choroby roślin w uprawach rolniczych. Wydawnictwo SGGW, Warszawa.
6. Leonard K. J., Szabo L. J. 2005. Stem rust of small grains and grasses caused by *Puccinia graminis*. *Molecular Plant Pathology*, 6(2): 99–111.
7. Paczos – Grzęda E., Okoń S., Koroluk A., Kowalczyk K. 2014. Ocena odporności na rdzę koronową nowych i historycznych polskich odmian owsa zwyczajnego. *Zootech.* 310(30): 85 – 92.
8. Sebesta J., Zwatz B., Roderick H.W., Corazza L., Manisterski J., Stojanovic S., 2003. Incidence of crown rust and virulence of *Puccinia coronata* Cda. f.sp. *avenae* Eriks. and the effectiveness of *Pc* genes for resistance in Europe, Middle East and North Africa. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 36, 179–194.

### Mierniki dla tematu badawczego 1

Lp.	miernik	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana
1.	Liczba izolatów analizowanych pod kątem patogeniczności względem 35 linii referencyjnych.	20	20
2.	Liczba linii referencyjnych ocenianych w warunkach naturalnej infekcji polowej w czterech lokalizacjach.	35	35
3.	Liczba populacji, z których zostaną wyprowadzone nowe izolaty.	4	4

## 3. 2. Ocena segregacji genów odporności w populacjach mapujących

### Cel tematu badawczego 2

- \* Przeprowadzenie krzyżowań mających na celu uzyskanie mieszańców pomiędzy formami ze zdefiniowanymi genami odporności, a formami nieodpornymi
- \* Fenotypowanie mieszańców F<sub>1</sub> uzyskanych w roku poprzednim
- \* Ocena segregacji genów odporności w populacji mapującej F<sub>2</sub> Bingo × *Pc52* na podstawie testów żywiciel-patogen w warunkach laboratoryjnych i w warunkach naturalnej infekcji.
- \* Rozmnożenie 4 populacji mieszańców F<sub>2</sub>.

### Materiały i metody

Wszystkie formy przeznaczone do krzyżowań, rozmnożeń i/lub fenotypowania wysiano na poletkach Gospodarstwa Doświadczalnego Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, w

Czesławicach koło Nałęczowa. Krzyżowania prowadzono w celu uzyskania ziarniaków  $F_1$  10 kombinacji mieszańcowych, w których jednym z komponentów rodzicielskich była odmiana 'Kasztan', zaś drugim komponentem jedna z 10 wymienionych niżej linii referencyjnych.

Odmiana wrażliwa	Odporne linie referencyjne
Kasztan	<i>Pc 51, Pc 53, Pc 57, Pc 58, Pc 70, Pc 71, Pc 97, Pc 101, Pc 103, Pc 104</i>

Kastrowanie roślin rozpoczęło się na początku fazy kwitnienia. W wiechach form matecznych kastrowano kilkanaście szczytowych kłosek, fragmenty wiech zaizolowano izolatorami z tomofanu do czasu zapylenia. Po 3-4 dniach od usunięcia pylników na dojrzałe znamiona naniesiono pyłek z pylników zebranych wcześniej z roślin ojcowskich. Izolatory pozostawały na roślinach aż do zbioru, który miał miejsce po osiągnięciu dojrzałości woskowej. Na podstawie liczby wykastrowanych kwiatków oraz liczby zawiązanych ziarniaków określono efektywność krzyżowania.

Ziarniaki  $F_1$  reprezentujące 100 kombinacji mieszańcowych uzyskanych w roku poprzednim wysiano w celu uzyskania pokolenia  $F_2$ . Wysiewano po 2 ziarniaki z kombinacji, ewentualnie 1 jeśli w roku poprzednim nie uzyskano wystarczającej ilości nasion. Wszystkie rośliny  $F_1$  poddano ocenie fenotypowej. Fenotypowanie roślin  $F_1$  polegało na ocenie podstawowych walorów rolniczych rośliny w warunkach laboratoryjnych. Ocenione zostały: wysokość, liczba pędów produkcyjnych i niedogonów, długość wiechy, liczba kłosek, liczba i masa ziarniaków z wiechy oraz masa ziarniaków z rośliny.

250 ziarniaków pokolenia  $F_2$  reprezentujących kombinację mieszańcową Bingo×*Pc52* przeznaczonych do oceny segregacji genu odporności *Pc52* wysiano na paletach w fitotronie. Każdą z uzyskanych roślin w stadium 10-dniowej siewki poddano testowi żywiciel-patogen. Metodyka i ocena testów zgodna z przedstawioną w temacie badawczym 1. Testy odporności wykonano dla wstępnie wyselekcjonowanych 3 izolatów, które charakteryzują się zjadliwością w stosunku do odmiany 'Bingo', a nie przełamują odporności warunkowanej genem *Pc52*. Rośliny, z których pobrano fragmenty liści do testów następnie wysadzono na poletkach Gospodarstwa Doświadczalnego Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, w Czesławicach koło Nałęczowa. Z obserwacji z lat poprzednich wiadomo, że w zależności od kondycji siewek i warunków pogodowych przeżywalność roślin wynosi od 80 do 90%. Rośliny, które adaptowały się do warunków polowych (ok. 220) zostaną poddane ocenie odporności w stadium rośliny dorosłej w warunkach naturalnej infekcji polowej. Typ infekcji określono poprzez dokonanie wizualnej oceny liści zgodnie ze skalą 0–9 (McNeal i in. 1971). Wyniki obserwacji laboratoryjnych w stadium siewki i obserwacji polowych w stadium rośliny dorosłej zostały porównane. W fazie dojrzałości pełnej z każdej rośliny zebrano ziarniaki reprezentujące pokolenie  $F_3$  w celu identyfikacji homozygot odpornych (AA) i porażonych (aa).

Ziarniaki z pozostałych 4 populacji mapujących  $F_2$ , których pochodzenie mieszańcowe potwierdzono metodą RAPD (w ramach tematu badawczego 3) poddano rozmnożeniu i jednokrotnej ocenie rozszczepień odporności na rdzę w warunkach naturalnej infekcji w doświadczeniu polowym założonym w GD UP w Czesławicach. Liczebność każdej z populacji wyniosła ok. 100 osobników. W fazie dojrzałości pełnej ze wszystkich roślin zebrano ziarniaki reprezentujące pokolenie  $F_3$ .

## Wyniki

Krzyżowania prowadzono w celu uzyskania ziarniaków  $F_1$  10 kombinacji mieszańcowych, w których jednym z komponentów rodzicielskich była odmiana 'Kasztan', zaś drugim komponentem jedna z 10 linii referencyjnych zawierających określone geny odporności na rdzę koronową *Pc*. W sumie wykastrowano i zapyłono 926 kwiatków w 88 wiechach i otrzymano 172 ziarniaki. Ilość wykształconych ziarniaków wahała się od 1 dla kombinacji Kasztan x *Pc51* oraz Kasztan x *Pc97* do 47 dla kombinacji *Pc70* x Kasztan. W przypadku

krzyżowania z linią *Pc70* wyższą efektywność krzyżowania uzyskano, gdy formą mateczną była linia *Pc*. Średnia efektywność krzyżowania wyniosła 18,6%, wahając się od 1,6% (*Kasztan x Pc51*) do 47,2 (*Kasztan x Pc58*) (Tab.5.).

Z uwagi na małą liczbę ziarniaków uzyskaną dla kombinacji *Kasztan x Pc51* oraz *Kasztan x Pc97*, krzyżowani zostaną powtórzone w roku kolejnym.

Tab.3. Opracowanie statystyczne prowadzonych krzyżowań.

Forma mateczna	Forma ojcowska	Pochodzenie formy ojcowskiej	Liczba wykastro- wanych i zapylnych wiech	Liczba wykastro- wanych kwiatków	Liczba zawiązanych ziarniaków	Efektywność krzyżowania
Kasztan	<i>Pc51</i>	Cereal Disease Lab, USDA St. Paul, Minnesota, USA	6	62	1	1,61
Kasztan	<i>Pc53</i>	Cereal Disease Lab, USDA St. Paul, Minnesota, USA	4	49	4	8,16
Kasztan	<i>Pc57</i>	Cereal Disease Lab, USDA St. Paul, Minnesota, USA	8	86	11	12,79
Kasztan	<i>Pc58</i>	Cereal Disease Lab, USDA St. Paul, Minnesota, USA	8	89	42	47,19
Kasztan	<i>Pc70</i>	Cereal Disease Lab, USDA St. Paul, Minnesota, USA	14	153	7	4,58
<i>Pc70</i>	Kasztan	Cereal Disease Lab, USDA St. Paul, Minnesota, USA	14	135	47	34,81
<i>Pc71</i>	Kasztan	Cereal Disease Lab, USDA St. Paul, Minnesota, USA	19	181	27	14,92
Kasztan	<i>Pc97</i>	AAFC, Winnipeg, Manitoba, Kanada	4	42	1	2,38
Kasztan	<i>Pc101</i>	AAFC, Winnipeg, Manitoba, Kanada	4	48	16	33,33
Kasztan	<i>Pc103-1</i>	AAFC, Winnipeg, Manitoba, Kanada	5	57	11	19,30
Kasztan	<i>Pc104</i>	AAFC, Winnipeg, Manitoba, Kanada	2	24	5	20,83
		Suma	88	926	172	
		Średnia	8	84,18	15,64	18,57

Mieszance  $F_1$  reprezentujące 100 kombinacji poddano ocenie fenotypowej. Oprócz podstawowych walorów rolniczych roślin w warunkach laboratoryjnych ocenione zostały również: odporność na rdzę i mączniaka (Tab.6.). Wartość poszczególnych cech charakteryzowała się dużą zmiennością. Większość mieszańców wykazywała zarówno odporność na mączniaka, jak i na rdzę w warunkach naturalnej infekcji polowej.

Tab.4. Ocena fenotypowa mieszańców reprezentujących 100 kombinacji krzyżówkowych form odpornych z nieodpornymi.

Nr kombinacji	Forma mateczna	Forma ojcowska	Nr rośliny	Wysokość	Liczba pędów produkcyjnych	Liczba niedogonów	Długość wiechy	Liczba kłosków	Liczba ziarniaków	Masa ziarniaków	Plodność kłoska	MTZ [g]	Rdza	Mączniak
581	Sam	Pc14	1	149	6	4	27	99	225	8,82	2,27	39,20	0	0
581	Sam	Pc14	2	137	4	4	23	63	133	5,04	2,11	37,89	0	0
582	Rajtar	Pc104	1	125	4	2	26	92	161	7,19	1,75	44,66	0	0
583	Breton	Pc101	1	116	3	1	20	74	173	7	2,34	40,46	0	0
583	Breton	Pc101	2	113	5	2	20	103	217	8,90	2,11	41,01	0	0
584	Breton	Pc48K	1	132	9	10	23	115	232	9,12	2,02	39,31	0	3
586	Breton	Pc96K	1	114	4	1	20	69	133	5,44	1,93	40,90	0	0
586	Breton	Pc96K	2	128	3	1	20	50	116	4,53	2,32	39,05	0	0
587	Furman	Pc104	1	132	4	0	25	84	159	5,88	1,89	36,98	0	0
587	Furman	Pc104	2	124	4	0	25	77	141	5,16	1,83	36,60	0	0
592	Celer	Pc39U	1	125	4	1	25	104	189	6,38	1,82	33,76	nb	nb
592	Celer	Pc39U	2	119	4	2	23	85	168	5,69	1,98	33,87	nb	nb
594	Pc101	Bingo	1	153	6	3	20	34	83	3,29	2,44	39,64	0	0
596	Pc103	Breton	1	138	12	6	25	51	79	2,68	1,55	33,92	3	7
598	Pc104	Rajtar	1	132	5	1	25	80	152	6,16	1,90	40,53	0	0
598	Pc104	Rajtar	2	124	4	1	27	78	114	5,55	1,46	48,68	0	0
600	Pc104	Kasztan	1	113	2	1	23	54	95	4,27	1,76	44,95	0	0
600	Pc104	Kasztan	2	120	3	0	25	60	118	4,99	1,97	42,29	0	0
601	Pc14	Rajtar	1	128	6	0	22	54	118	4,66	2,19	39,49	0	0
602	Pc14	Breton	1	130	6	4	25	85	189	7,59	2,22	40,16	0	0
602	Pc14	Breton	2	125	7	6	25	88	216	9,29	2,45	43,01	0	0
603	Pc14	Bingo	1	143	8	6	19	88	170	7,29	1,93	42,88	0	0
603	Pc14	Bingo	2	121	5	2	21	67	121	5,07	1,81	41,90	0	0
604	Pc14	Kasztan	1	118	4	3	24	64	118	5,11	1,84	43,31	0	0
605	Pc14	Sławko	1	125	3	1	22	56	101	4,39	1,80	43,47	0	0
605	Pc14	Sławko	2	129	4	1	25	60	140	5,75	2,33	41,07	0	0
606	Pc14	Chwat	1	132	7	0	24	66	147	4,98	2,23	33,88	nb	nb
608	Pc38	Kasztan	1	126	8	2	23	67	142	5,06	2,12	35,63	3	3
608	Pc38	Kasztan	2	1121	7	5	23	53	97	3,48	1,83	35,88	3	3
613	Pc40K	Kasztan	1	119	4	3	25	94	229	8,53	2,44	37,25	1	0
613	Pc40K	Kasztan	2	123	4	0	24	88	160	5,73	1,82	35,81	1	0
614	Pc45	Kasztan	1	134	4	8	25	90	214	7,35	2,38	34,35	0	3
614	Pc45	Kasztan	2	118	3	0	17	43	85	3,24	1,98	38,12	0	3
615	Pc46K	Kasztan	1	125	3	1	23	67	122	4,62	1,82	37,87	1	0
616	Pc48K	Rajtar	1	120	4	0	20	56	109	3,71	1,95	34,04	0	0

Nr kombinacji	Forma mateczna	Forma ojcowska	Nr rośliny	Wysokość	Liczba pędów produkcyjnych	Liczba niedogonów	Długość wiechy	Liczba kłosek	Liczba ziarniaków	Masa ziarniaków	Plodność kłoska	MTZ [g]	Rdza	Mączniak
617	Pc48K	Budrys	1	141	3	0	20	56	111	3,97	1,98	35,77	0	0
617	Pc48K	Budrys	2	131	2	0	22	86	161	4,74	1,87	29,44	0	0
618	Pc48K	Bingo	1	115	3	0	20	58	103	3,71	1,78	36,02	0	0
618	Pc48K	Bingo	2	105	3	0	19	55	87	3,22	1,58	37,01	0	0
619	Pc48K	Kasztan	1	139	4	3	26	99	221	8,67	2,23	39,23	0	0
620	Pc48U	Bingo	1	137	10	10	24	83	235	8,41	2,83	35,79	1	5
620	Pc48U	Bingo	2	133	4	4	24	67	123	4,37	1,84	35,53	1	5
621	Pc48U	Kasztan	1	116	4	0	22	61	121	3,62	1,98	29,92	0	0
621	Pc48U	Kasztan	2	132	3	4	25	69	167	5,34	2,42	31,98	0	0
622	Pc50	Bingo	1	137	3	1	21	61	117	5,29	1,92	45,21	0	0
622	Pc50	Bingo	2	121	5	0	22	76	157	5,44	2,07	34,65	0	0
625	Pc50K	Chwat	1	135	4	4	20	48	122	4,64	2,54	38,03	1	0
625	Pc50K	Chwat	2	132	6	3	21	51	112	4,34	2,20	38,75	1	0
627	Pc50U	Rajtar	1	125	4	2	21	71	113	4,29	1,59	37,96	5	0
627	Pc50U	Rajtar	2	144	8	3	31	119	282	9,85	2,37	34,93	5	0
628	Pc50U	Breton	1	126	3	0	22	68	119	4,43	1,75	37,23	0	0
628	Pc50U	Breton	2	130	2	1	23	42	131	5,09	3,12	38,85	0	0
629	Pc50U	Bingo	1	135	4	1	24	86	165	5,86	1,92	35,52	1	1
629	Pc50U	Bingo	2	138	4	3	23	78	154	6,33	1,97	41,10	1	1
630	Pc50U	Kasztan	1	133	4	0	25	80	162	5,99	2,03	36,98	0	0
630	Pc50U	Kasztan	2	133	4	4	25	66	172	6,74	2,61	39,19	0	0
631	Pc50U	Chwat	1	130	7	7	23	58	150	6,01	2,59	40,07	0	0
634	Pc51U	Bingo	1	120	8	1	18	38	80	3,33	2,11	41,63	0	0
634	Pc51U	Bingo	2	124	5	8	20	42	114	4,91	2,71	43,07	0	0
635	Pc51U	Kasztan	1	128	4	1	22	63	126	4,72	2,00	37,46	0	0
635	Pc51U	Kasztan	2	115	3	1	18	29	60	2,5	2,07	41,67	0	0
636	Pc51U	Sławko	1	123	3	3	21	39	94	4,02	2,41	42,77	0	3
636	Pc51U	Sławko	2	128	5	4	22	43	101	4,24	2,35	41,98	0	3
637	Pc51U	Chwat	1	130	5	4	21	56	148	5,64	2,64	38,11	0	3
637	Pc51U	Chwat	2	121	4	2	20	51	140	5,03	2,75	35,93	0	3
638	Pc52	Rajtar	1	142	4	1	24	80	152	5,73	1,90	37,70	0	0
638	Pc52	Rajtar	2	128	5	0	22	60	100	3,24	1,67	32,40	0	0
639	Pc52	Bingo	1	133	3	0	20	60	111	4,58	1,85	41,26	nb	nb
639	Pc52	Bingo	2	138	4	1	19	45	78	2,37	1,73	30,38	nb	nb
640	Pc52	Kasztan	1	120	2	1	20	42	82	3,31	1,95	40,37	0	0
640	Pc52	Kasztan	2	129	2	1	22	54	104	3,75	1,93	36,06	0	0
641	Pc52	Bajka	1	129	4	3	22	46	106	3,95	2,30	37,26	0	3
641	Pc52	Bajka	2	132	6	3	22	65	185	5,56	2,85	30,05	0	1
642	Pc55	Kasztan	1	137	10	10	28	73	199	7,1	2,73	35,68	3	3

Nr kombinacji	Forma mateczna	Forma ojcowska	Nr rośliny	Wysokość	Liczba pędów produkcyjnych	Liczba niedogonów	Długość wiechy	Liczba kłosek	Liczba ziarniaków	Masa ziarniaków	Plodność kłoska	MTZ [g]	Rdza	Mączniak
642	Pc55	Kasztan	2	138	4	5	24	51	98	3,59	1,92	36,63	3	3
643	Pc56	Bingo	1	123	5	1	21	76	159	6,04	2,09	37,99	5	0
643	Pc56	Bingo	2	126	5	1	21	38	148	5,25	3,89	35,47	5	0
644	Pc56	Kasztan	1	125	5	2	24	65	131	5,10	2,02	38,93	3	0
644	Pc56	Kasztan	2	118	5	0	23	58	136	5,27	2,34	38,75	3	0
647	Pc57	Kasztan	1	121	6	1	23	51	111	4,54	2,18	40,90	0	0
648	Pc57	Sławko	1	125	4	4	23	30	65	2,58	2,17	39,69	0	3
648	Pc57	Sławko	2	113	5	2	21	42	84	3,26	2,00	38,81	0	3
649	Pc58U	Bingo	1	111	2	2	20	29	69	3,04	2,38	44,06	1	0
650	Pc59K	Breton	1	117	6	4	21	29	78	3,05	2,69	39,10	0	0
651	Pc59K	Bingo	1	140	5	0	26	78	135	5,43	1,73	40,22	0	0
651	Pc59K	Bingo	2	144	4	1	25	57	104	4,47	1,82	42,98	0	0
652	Pc59K	Kasztan	1	142	4	2	29	59	115	4,80	1,95	41,74	3	0
652	Pc59K	Kasztan	2	142	5	6	30	51	110	4,8	2,16	43,64	0	0
653	Pc59U	Rajtar	1	123	7	9	25	34	82	3,47	2,41	42,32	0	0
653	Pc59U	Rajtar	2	119	7	9	26	43	111	4,71	2,58	42,43	0	0
654	Pc59U	Breton	1	132	5	4	22	32	83	2,72	2,59	32,77	0	0
654	Pc59U	Breton	1	135	3	3	23	75	176	6,78	2,35	38,52	0	0
654	Pc59U	Breton	2	130	6	5	22	84	200	6,92	2,38	34,60	0	0
655	Pc59U	Bingo	1	107	3	2	16	40	87	2,67	2,18	30,69	0	0
655	Pc59U	Bingo	2	131	4	0	20	57	112	4,21	1,96	37,59	0	0
656	Pc59U	Kasztan	1	102	4	5	23	49	122	4,84	2,49	39,67	nb	nb
656	Pc59U	Kasztan	2	120	4	3	20	54	164	5,87	3,04	35,79	0	0
657	Pc60	Arden	1	121	6	1	21	48	90	3,42	1,88	38,00	0	0
657	Pc60	Arden	2	110	3	1	18	32	57	1,97	1,78	34,56	0	0
659	Pc60	Bingo	1	131	7	10	21	43	110	4,63	2,56	42,09	0	1
660	Pc60	Kasztan	1	136	6	4	25	45	101	3,93	2,24	38,91	0	0
660	Pc60	Kasztan	2	128	5	3	23	44	90	3,5	2,05	38,89	0	0
661	Pc60	Chwat	1	16	4	1	19	37	75	3,18	2,03	42,40	0	0
661	Pc60	Chwat	2	115	5	0	20	35	67	2,42	1,91	36,12	0	0
667	Pc64	Bingo	1	122	4	1	20	45	97	3,60	2,16	37,11	nb	nb
668	Pc68	Rajtar	1	125	4	1	22	74	138	4,91	1,86	35,58	0	0
668	Pc68	Rajtar	2	131	4	3	25	58	153	6,3	2,64	41,18	0	0
669	Pc68	Breton	1	123	4	2	21	63	118	4,46	1,87	37,80	0	0
670	Pc68	Arden	1	132	6	3	20	60	132	5,88	2,20	44,55	0	3
670	Pc68	Arden	2	125	8	5	21	74	145	6,38	1,96	44,00	0	5-7
671	Pc68	Bingo	1	125	3	1	22	64	123	5,75	1,92	46,75	0	5
671	Pc68	Bingo	2	137	6	4	25	82	123	6,97	1,50	56,67	0	7
672	Pc68	Kasztan	1	127	3	3	22	50	91	4,21	1,82	46,26	0	5

Nr kombinacji	Forma mateczna	Forma ojcowiska	Nr rośliny	Wysokość	Liczba pędów produkcyjnych	Liczba niedogonów	Długość wiechy	Liczba kłosek	Liczba ziarniaków	Masa ziarniaków	Plodność kłoska	MTZ [g]	Rdza	Mączniak
672	Pc68	Kasztan	2	135	4	4	23	67	104	4,71	1,55	45,29	0	1
674	Pc71	Bingo	1	112	4	0	18	39	91	3,72	2,33	40,88	0	0
674	Pc71	Bingo	2	105	5	0	17	30	68	2,74	2,27	40,29	0	0
675	Pc71	Kasztan	1	118	4	1	16	33	62	2,44	1,88	39,35	0	0
675	Pc71	Kasztan	2	115	6	2	20	40	90	3,9	2,25	43,33	0	0
676	Pc91	Rajtar	1	128	6	5	25	80	164	6,71	2,05	40,91	0	3
676	Pc91	Rajtar	2	126	4	4	25	88	182	6,92	2,07	38,02	0	3
681	Pc91	Bingo	1	130	2	3	20	38	123	5,08	3,24	41,30	0	0
681	Pc91	Bingo	2	118	6	3	21	47	173	6,68	3,68	38,61	0	3
682	Pc91	Kasztan	1	121	2	0	20	52	91	3,37	1,75	37,03	0	3
682	Pc91	Kasztan	2	125	3	3	22	53	132	5,12	2,49	38,79	0	5
683	Pc91	Sławko	1	132	4	4	25	83	174	7,66	2,10	44,02	0	0
683	Pc91	Sławko	2	137	4	4	25	87	221	9,36	2,54	42,35	0	0
685	Pc94K	Rajtar	1	117	4	1	23	51	104	3,87	2,04	37,21	0	0
685	Pc94K	Rajtar	2	125	4	3	22	56	106	3,97	1,89	37,45	0	0
686	Pc94K	Kasztan	1	121	8	10	23	43	90	3,74	2,09	41,56	0	3
686	Pc94K	Kasztan	2	115	5	3	21	57	104	4,38	1,82	42,12	0	3
687	Pc94U	Rajtar	1	118	6	10	21	61	119	4,03	1,95	33,87	0	5
688	Pc94U	Breton	1	122	6	3	21	76	136	5,21	1,79	38,31	0	3
688	Pc94U	Breton	2	120	2	2	20	56	102	4,27	1,82	41,86	0	3
689	Pc94U	Kasztan	1	105	3	0	20	39	71	2,55	1,82	35,92	0	0
689	Pc94U	Kasztan	2	104	4	0	20	46	86	3,34	1,87	38,84	0	0
690	Pc96K	Rajtar	1	104	3	0	20	56	106	4,45	1,89	41,98	0	0
690	Pc96K	Rajtar	2	95	3	2	18	40	68	3,05	1,70	44,85	0	0
691	Pc96K	Arden	1	128	3	4	27	85	173	7,79	2,04	45,03	0	5
691	Pc96K	Arden	2	121	3	8	26	83	190	8,74	2,29	46,00	0	5
692	Pc96K	Bingo	1	120	9	4	25	37	71	2,86	1,92	40,28	0	3
692	Pc96K	Bingo	2	103	5	3	21	29	102	4,51	3,52	44,22	0	3
694	Pc96U	Bingo	1	104	5	2	19	32	56	2,28	1,75	40,71	0	1
695	Pc96U	Kasztan	1	160	3	2	19	43	73	3,22	1,70	44,11	0	1
695	Pc96U	Kasztan	2	101	3	3	19	41	74	3,16	1,80	42,70	0	1
696	Pc98	Rajtar	1	150	7	8	31	75	162	6,11	2,16	37,72	3	0
696	Pc98	Rajtar	2	146	6	6	29	68	137	5,34	2,01	38,98	3	0
697	Pc98	Bingo	1	153	7	8	30	89	187	7,70	2,10	41,18	1	0
697	Pc98	Bingo	2	155	8	8	29	70	182	6,88	2,60	37,80	1	0
698	Pc98	Kasztan	1	142	3	3	27	57	135	5,26	2,37	38,96	0	1
699	Bingo	Pc104	1	99	3	0	22	40	90	3,54	2,25	39,33	0	0
699	Bingo	Pc104	2	117	3	5	23	54	119	5,51	2,20	46,30	nb	nb
700	Bingo	Pc14	1	105	1	0	16	21	40	1,72	1,90	43,00		

Nr kombinacji	Forma mateczna	Forma ojcowska	Nr rośliny	Wysokość	Liczba pędów produkcyjnych	Liczba niedogonów	Długość wiechy	Liczba kłosek	Liczba ziarniaków	Masa ziarniaków	Plodność kłoska	MTZ [g]	Rdza	Mączniak
701	Bingo	<i>Pc50K</i>	1	119	3	0	22	76	146	5,59	1,92	38,29	0	0
701	Bingo	<i>Pc50K</i>	2	101	3	0	19	27	56	2,38	2,07	42,50	0	0
702	Bingo	<i>Pc52</i>	1	124	3	1	22	67	137	5,02	2,04	36,64	nb	nb
702	Bingo	<i>Pc52</i>	2	120	3	0	21	65	18	0,51	0,28	28,33	nb	nb
703	Kasztan	<i>Pc101</i>	1	155	4	7	28	33	92	3,52	2,79	38,26	0	5
706	Kasztan	<i>Pc58K</i>	1	101	4	2	22	56	119	5,03	2,13	42,27	0	0
707	Kasztan	<i>Pc59K</i>	1	111	5	1	20	31	83	3,67	2,68	44,22	0	3
707	Kasztan	<i>Pc59K</i>	2	107	3	0	19	26	60	2,49	2,31	41,50	0	7
708	Kasztan	<i>Pc59U</i>	1	123	2	1	20	56	115	4,54	2,05	39,48	0	0
709	Kasztan	<i>Pc60</i>	1	113	2	2	18	39	62	2,64	1,59	42,58	0	3
710	Kasztan	<i>Pc68</i>	1	123	4	4	22	48	102	3,82	2,13	37,45	0	5
712	Bajka	<i>Pc52</i>	1	133	8	6	25	80	143	5,72	1,79	40,00	0	5
712	Bajka	<i>Pc52</i>	2	130	5	3	27	78	187	7,54	2,40	40,32	0	5
713	Bajka	<i>Pc60</i>	1	131	11	5	25	29	68	3,01	2,34	44,26	0	7
714	Bajka	<i>Pc96K</i>	1	104	4	2	20	61	123	4,85	2,02	39,43	0	3
715	Sławko	<i>Pc52</i>	1	137	3	3	23	76	152	6,41	2,00	42,17	0	3
715	Sławko	<i>Pc52</i>	2	142	6	4	26	72	202	8,32	2,81	41,19	0	0
716	Chwat	<i>Pc14</i>	1	112	4	2	21	50	102	4,27	2,04	41,86	0	0
717	Chwat	<i>Pc60</i>	1	123	4	5	22	47	96	3,94	2,04	41,04	0	1
717	Chwat	<i>Pc60</i>	2	129	6	4	21	57	95	4,21	1,67	44,32	0	1

Rośliny F<sub>2</sub> reprezentujące kombinację mieszańcową Bingo × *Pc52* przeznaczone do oceny segregacji genu odporności *Pc52* testowano w stadium siewki, a następnie oceniano w warunkach naturalnej infekcji polowej. Testy odporności w stadium siewki wykonano dla 252 roślin dla wstępnie wyselekcjonowanych 3 izolatów, które charakteryzowały się zjadliwością w stosunku do odmiany 'Bingo', a nie przełamywały odporności warunkowanej genem *Pc52*. Przeprowadzony test wykazał zróżnicowaną reakcję poszczególnych roślin mieszańcowych na poszczególne izolaty. Tylko w niektórych przypadkach typ reakcji był zgodny dla wszystkich testowanych izolatów.

Rośliny, z których pobrano fragmenty liści do testów, następnie wysadzono na polkach Gospodarstwa Doświadczalnego Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, w Czesławicach koło Nałęczowa. Rośliny, które adaptowały się do warunków polowych poddano ocenie odporności w stadium rośliny dorosłej (Tab.7.). W tym wypadku również nie obserwowano zgodności pomiędzy reakcją roślin w stadium siewki, a reakcją rośliny dorosłej. Niemniej jednak, dla wybranych genotypów reakcja ta była zbieżna i te rośliny zostaną w kolejnym roku badań przetestowane pod kątem identyfikacji homozygot odpornych i porażonych, co umożliwiłoby w przyszłości opracowanie markera molekularnego dla genu *Pc52*.

Kombinacje 483, 540, 553 oraz 575 wybrane po potwierdzeniu ich mieszańcowego pochodzenia metodą RAPD, zostały przeznaczone do dalszych rozmnożeń i analizy rozszczepień genów odporności *Pc57* i *Pc59*. Zaplanowano przeprowadzenie jednokrotnej



oceny odporności na rdzę w warunkach naturalnej infekcji, niemniej jednak ocenę tę prowadzono 3-krotnie w okresie wegetacji z uwagi na całkowity brak porażenia. Dopiero ocena w trzecim terminie zakończyła się identyfikacją roślin porażonych. Rośliny takie stwierdzono jedynie w populacjach 483 i 540 (Tab. 8). W populacjach 553 i 575 nie odnotowano porażenia.

Tab. 8. Ocena porażenia roślin rdzą koronową mieszańców pokolenia F<sub>2</sub>.

Populacja mapująca pokolenie F <sub>2</sub>	Kombinacja mieszańcowa	Gen odporności	Liczba roślin porażonych	Liczba roślin nie porażonych	Liczebność całej populacji
483	<i>Pc57</i> 3 × Bingo A	<i>Pc57</i>	8	121	129
540	Bingo 2 × <i>Pc59</i> 1	<i>Pc59</i>	16	73	89
553	Bingo 4 × <i>Pc59</i> 1	<i>Pc59</i>	0	99	99
575	Kasztan 6 × <i>Pc59</i> 1	<i>Pc59</i>	0	123	123

Na podstawie oceny porażenia populacji 540 można wnioskować, że odporność warunkowana obecnością genu *Pc59* jest odpornością monogeniczną dominującą, a stosunek rozszczepień zbliżony jest do 3:1. Rośliny porażone to homozygoty recesywne. Ocena rozczepień linii F<sub>3</sub> w warunkach laboratoryjnych, izolatem wywołującym podobną reakcję do reakcji w stadium rośliny dorosłej w warunkach polowych umożliwiłaby identyfikację odpornych homozygot dominujących. Taka ocena byłaby wstępem do poszukiwania markera dla genu odporności *Pc59*.

## Dyskusja

Specjalizacja patogenów i wytwarzanie nowych ras fizjologicznych prowadzi do przełamania odporności roślin warunkowanej przez geny odporności. Pojawianie się ras wirulentnych w stosunku do znanych genów zmusza do poszukiwania nowych źródeł odporności (Górny, 2005). W hodowli odpornościowej selekcja roślin odpornych odbywa się w oparciu o obserwację fenotypu w warunkach naturalnej lub sztucznej infekcji polowej. Najczęściej prowadzi się jednak testy żywiciel – patogen w stadium siewki na całych roślinach lub fragmentach liści (Kowalczyk i in. 1998, Czembor 2000, Tomczyńska, Śliwka, 2011). W celu łatwiejszego monitorowania przepływu genów i selekcji roślin będących homozygotami pod względem danego locus warunkującego odporność, najlepszym rozwiązaniem jest ocena genotypowa, gdyż w porównaniu z selekcją fenotypową wyniki otrzymywane są szybko i niezależne od okresu wegetacyjnego oraz od wpływów środowiska (Tomczyńska, Śliwka, 2011). Testy żywiciel-patogen stosowano w owsie zwyczajnym do poszukiwania nowych oraz identyfikacji znanych genów odporności na rdzę koronową (Sebesta i Harder 1983, Sanchez-Martin i in. 2012, Paczos-Grzęda i in. 2014).

Aby sprawdzić czy w genotypie rośliny znajduje się gen warunkujący odporność najlepiej dokonać jego identyfikacji przy pomocy markerów molekularnych (Tomczyńska, Śliwka, 2011). Niemniej jednak, aby możliwe było opracowanie markera, pierwszym etapem pracy jest wyprowadzenie populacji mapujących zawierających badane geny odporności w tle odmiany podatnej na porażenie. W przypadku dziedziczenia monogenicznego rozszczepienie w pokoleniu F<sub>2</sub> powinno wynosić 3:1 form odpornych do porażonych. Wszystkie formy porażone są homozygotami recesywnymi pod względem danego genu i nie wymagają dalszego testowania, jednak nie jest możliwe odróżnienie homozygoty dominującej od heterozygoty, gdyż fenotypowo oba te genotypy są odporne. Kolejnym etapem jest więc testowanie pokolenia F<sub>3</sub>. Homozygoty pokolenia F<sub>2</sub> pozostają homozygotami w pokoleniu F<sub>3</sub>

i są fenotypowo jednorodne, a więc odporne, heterozygoty rozszczepiają się i segregują pod względem odporności w stosunku 3:1. Test w pokoleniu F<sub>3</sub> pozwala więc zidentyfikować homozygoty dominujące. Tak wytypowane homozygoty obu typów mogą posłużyć do poszukiwania markera dla genu odporności z wykorzystaniem metody pul zbiorczych - BSA (bulk segregant analysis) (Michelmore i in. 1991, Quarrie i in. 1999). Stosując różne metody identyfikacji polimorfizmu należy poszukiwać różnic na poziome DNA lub mRNA pomiędzy formami odpornymi i podatnymi. Zidentyfikowane polimorfizmy mogą być sprzężone z genem odporności, a w skrajnie korzystnej sytuacji mogą znajdować się bezpośrednio w obrębie sekwencji kodującej.

U roślin występuje odporność rasowo specyficzna (monogeniczna) i niespecyficzna (poligeniczna) (Tomczyńska, Śliwka, 2011). Pierwsza z nich warunkowana jest przez jeden gen i uwidacznia się we wszystkich stadiach rozwojowych rośliny. Stosunkowo łatwo można ją wprowadzić, ale także jest szybciej przełamywana niż odporność warunkowana poligenicznie (Tuzun, 2001). Drugi typ odporności warunkowany jest przez więcej niż jeden gen. Jest nazywany również odpornością częściową, gdyż nie zapobiega infekcji całkowicie, ale spowalnia i ogranicza rozwój patogenu (Portyanko i in., 2005). Odporność niespecyficzna rasowo może być bardziej trwała od odporności specyficznej, ponieważ patogen poddawany jest słabszej presji selekcyjnej, co spowalnia rozwój wirulencji względem tych genów. Wadą jest trudność w uzyskaniu tego typu odporności.

W przypadku odporności rasowo specyficznej ważny jest dobór odpowiedniego izolatu do testowania populacji. Z obserwacji wynika, że najlepiej do testów w warunkach laboratoryjnych mających określić segregację danego genu wykorzystywać izolaty wyprowadzone z populacji patogenu zebranych z roślin mieszańcowych będących homozygotami recesywnymi. Wówczas bardzo łatwo o zgodność wyników testu laboratoryjnego i testu polowego. Pojedynczy gen warunkuje co prawda odporność rośliny w każdym stadium rozwojowym, ale czy dany gen nie zostanie przełamany, zależy od zjadliwości izolatów tworzących lokalną populację patogenu.

Kolejną kwestią jest brak pewności czy odporność linii z genem *Pc52* jest warunkowana monogenicznie i wynika wyłącznie z obecności genu *Pc52*. Kolejnym krokiem będzie więc przeprowadzenie testu w pokoleniu F<sub>3</sub> w celu identyfikacji homozygot odpornych i weryfikacji homozygot porażonych, a także eliminacji heterozygot. Umożliwi to zweryfikowanie stosunku rozszczepień obserwowanego w pokoleniu F<sub>2</sub>.

## Wnioski

1. W efekcie krzyżowań przeprowadzonych w ramach tematu uzyskano mieszańce dla niemal wszystkich wartościowych genów nadających odporność na rdzę koronową.
2. Mieszańce zawierające słabsze geny posłużą do piramidyzacji i do określenia współdziałania genów o słabszych efektach.
3. Na podstawie przeprowadzonych testów stwierdzono zróżnicowaną odpowiedź poszczególnych roślin F<sub>2</sub> populacji 552 na porażenie różnymi izolatami *Puccinia coronata*.
4. Największą zgodność testu polowego z testem w warunkach laboratoryjnych stwierdzono dla izolatu 94.3.2.
5. Fenotypy mieszańców F<sub>2</sub> należy zweryfikować testem na liniach F<sub>3</sub>. Tak zidentyfikowane homozygoty posłużą do poszukiwania markerów molekularnych dla genu odporności *Pc52*.

## Literatura

1. Czembor J.H., 2000. Resistance to powdery mildew in population of barley landraces from Morocco. *Genet. Res. Crop Evol.* 47, 439–449.
2. Górný A. G. 2005. *Zarys genetyki zbóż*. Instytut Genetyki Roślin PAN, Poznań
3. Kowalczyk K., Hsam S.L.K., Zeller F.J., 1998. Identification of powdery mildew resistance genes in common wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell.) XI. Cultivars grown in Poland. *J. Appl. Genet.* 39 (3), 225–236.
4. Michelmore R.W., Paran I., Kesseli R.V. 1991. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proceedings of*
5. Paczos-Grzęda E., Okoń S., Koroluk A., Kowalczyk K. 2014. Ocena odporności na rdzę koronową nowych i historycznych polskich odmian owsa zwyczajnego *Folia Pomer. Univ. Technol. Stetin., Agric., Aliment., Pisc., Zootech.* 310(30), 85–92.
6. Portyanko V. A., Chen G., Rines H. W., Phillips R. L., Leonard K. J., Ochocki G. E., Stuthman D. D. 2005. Quantitative trait loci for partial resistance to crown rust, *Puccinia coronata*, in cultivated oat, *Avena sativa* L. *Theor Appl Genet* 111: 313 – 324.
7. Quarrie S.A., Lazic-Jancic V., Kovacevic D., Steed A., Pekic S. 1999. Bulk segregant analysis with molecular markers and its use for improving drought resistance in maize. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 50, No. 337, 1299–1306.
8. Sánchez-Martín J., Rubiales D., Sillero J.C., Prats E., 2012. Identification and characterization of sources of resistance in *Avena sativa*, *A. byzantina* and *A. strigosa* germplasm against a pathotype of *Puccinia coronata* f.sp. *avenae* with virulence against the *Pc94* resistance gene. *Plant Pathology* 61, 315–322.
9. Sebesta J., Harder D.E., 1983. Occurrence and distribution of virulence in *Puccinia coronata* var. *avenae* in Europe, 1977–1980. *Plant Disease* 67, 56–59.
10. Tomczyńska I., Śliwka J. 2011. Piramidyżacja genów odporności w roślinach uprawnych. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin*, 262: 77 – 88.
11. Tuzun S. 2001. The relationship between pathogen-induced systemic resistance (ISR) and multigenic (horizontal) resistance in plants. *Eur. J. Plant Pathol.* 107: 85 — 93.

### Mierniki dla tematu badawczego 2

Lp.	miernik	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana
1.	Liczba wyprowadzanych kombinacji mieszańcowych F <sub>1</sub>	10	10
2.	Liczba fenotypowanych kombinacji mieszańcowych F <sub>1</sub>	100	100
3.	Liczba roślin F <sub>2</sub> ocenianych pod względem odporności na rdzę w warunkach laboratoryjnych.	250	250
4.	Liczba roślin F <sub>2</sub> ocenianych pod względem odporności na rdzę w warunkach naturalnej infekcji polowej	220	220
5.	Liczba populacji mapujących F <sub>2</sub> poddanych rozmnożeniu i wstępnej ocenie rozszczepień w warunkach polowych (wytypowanych w ramach tematu badawczego 3).	4	4

### 3. 3. Genotypowanie form rodzicielskich i mieszańców z wykorzystaniem metod RAPD i RGA.

Cel tematu badawczego 3

- \* Potwierdzenie mieszańcowego pochodzenia kombinacji F<sub>1</sub> przeznaczonych do rozmnożenia i fenotypowania.
- \* Genotypowanie form rodzicielskich i mieszańców F<sub>2</sub> homozygotycznych pod względem odporności na rdzę koronową w celu identyfikacji potencjalnych markerów dla genu odporności *Pc39* z wykorzystaniem analizy mikromacierzy DArT.
- \* Poszukiwanie markerów dla genu *Pc39* metodą RGA (*resistance gene analogs*).
- \* Konwersja potencjalnych markerów DArTseq i silicoDArT dla genu *Pc39* na markery specyficzne.

#### Materiały i metody

Ekstrakcję, a następnie ocenę parametrów fizycznych preparatów DNA przeznaczonych do analiz molekularnych przeprowadzono z ok. 15 form rodzicielskich, 7 roślin pokolenia F<sub>1</sub> oraz 50 roślin F<sub>2</sub> homozygotycznych pod względem odporności wynikającej z obecności genu *Pc39*. Wykorzystano komercyjne zestawy do izolacji DNA. DNA wyizolowano z młodych liści. Liście pobrano w latach poprzednich w fazie krzewienia i zamrożone w temp. -70°C do czasu izolacji. Czystość i stężenie DNA określono spektrofotometrycznie, a jakość elektroforetycznie na 1% żelu agarozowym w buforze TBE. Wszystkie preparaty doprowadzono do stężenia 100 ng/μl i przeznaczono do dalszych analiz.

Dla 7 wybranych kombinacji mieszańcowych z genami odporności o największym potencjale przeprowadzono analizy molekularne z wykorzystaniem metody RAPD mające na celu potwierdzenie mieszańcowego pochodzenia tych form. Reakcję przeprowadzono min. dla 40, a max. dla 50 starterów RAPD w zależności od identyfikowanego poziomu polimorfizmu. W skład mieszaniny reakcyjnej o objętości 20 μL weszły: 1 x bufor do PCR; 160 μM dNTP; 5 pM startera; 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>; 20 ng genomowego DNA; 1 U polimerazy DNA Taq (Fermentas). Amplifikacja będzie prowadzona na termocyklerze T Professional Basic (Biometra) z zastosowaniem profilu termicznego: 95°C 2'30"; 40x (94°C 45", 37°C 45", 72°C 1'); 72°C 10'. Rozdział elektroforetyczny produktów amplifikacji prowadzono w 1,5% żelu agarozowym z 0,01% EtBr w buforze TBE przez 4 godziny przy napięciu 120V.

Analizy z wykorzystaniem mikromacierzy DArT przeprowadzono dla homozygotycznych pod względem genu odporności *Pc39* roślin F<sub>2</sub> populacji 'Celer' × STH 9210. 500ng genomowego DNA reprezentującego wytypowane genotypy wysłano w celu identyfikacji polimorfizmu klonów DArT. Analizy zrealizowano w Diversity Arrays Technology, University of Canberra w Australii wg opracowanej i opatentowanej metodyki. Jest to jedyny ośrodek prowadzący takie analizy. Wyniki uzyskano w postaci macierzy binarnych i poddano wstępnej ocenie polimorfizmu.

Matryce w reakcji PCR-RGA stanowiło DNA form rodzicielskich populacji mapującej 'Celer'×STH 9210 oraz próby zbiorcze odpornych i nieodpornych roślin F<sub>2</sub>. Próbkę zbiorczą przygotowano zgodnie z metodą BSA (*Bulk Segregant Analysis*) (Michelmore i in. 1991). W tym celu wyizolowane DNA 30 homozygotycznych roślin F<sub>2</sub> doprowadzono do jednakowego stężenia (100 ng/μl), a następnie połączono ze sobą w jednakowych objętościach. Reakcję PCR prowadzono dla 15 par starterów w 20 μl mieszaniny reakcyjnej zawierającej: wodę dejonizowaną, bufor, MgCl<sub>2</sub> (2mM), dNTP (200mM), startery F i R (10pMol), polimerazę Taq (1U) i DNA (40ng). Amplifikacja przeprowadzono na termocyklerze T Professional Basic (Biometra). Zastosowano profil temperaturowy reakcji: wstępna denaturacja - 95°C - 3 min, denaturacja - 94°C - 45 s; annealing -50-56°C- 45 s; wydłużanie - 72°C - 45 s; końcowe

wydłużanie – 72°C - 7 min. W celu identyfikacji polimorfizmów, występujących pomiędzy osobnikami odpornymi i nieodpornymi przeprowadzono rozdział elektroforetyczny w 2% żelu agarozowym z 0,01% EtBr w buforze TBE przez 3 godziny przy napięciu 120V. Przed przystąpieniem do właściwych analiz dla każdej pary starterów określono optymalną temperaturę przyłączania startera poprzez zastosowanie reakcji PCR w gradiencie temperatur. W celu weryfikacji czy potencjalne markery identyfikowane metodą RGA są sprzężone z genem odporności przeprowadzono reakcje dla wytypowanych par starterów z DNA homozygotycznych roślin F<sub>2</sub>.

Potencjalne markery DArTseq i silicoDArT dla genu *Pc39* zidentyfikowane wśród fragmentów silicoDArT i DArTseq uzyskanych w toku genotypowania w roku poprzednim przekonwertowano na markery specyficzne. Do projektowania starterów wykorzystano program Primer 3.0 dostępny w bazie NCBI. Po zsyntetyzowaniu zaprojektowanych starterów dla każdej pary dobrano właściwą temperaturę annealingu w reakcjach, w których matrycę stanowić będzie DNA form rodzicielskich: ‘Celer’ i STH 9210. Reakcja PCR prowadzono w 20 µl standardowej mieszaniny reakcyjnej zawierającej: wodę dejonizowaną, bufor, MgCl<sub>2</sub> (2mM), dNTP (200mM), startery F i R (10pMol), polimerazę *Taq* (1U) i DNA (40ng). W celu weryfikacji czy konwertowane markery segregują z genem odporności przeprowadzono reakcje z DNA homozygotycznych roślin F<sub>2</sub> populacji mapującej ‘Celer’ × STH 9210.

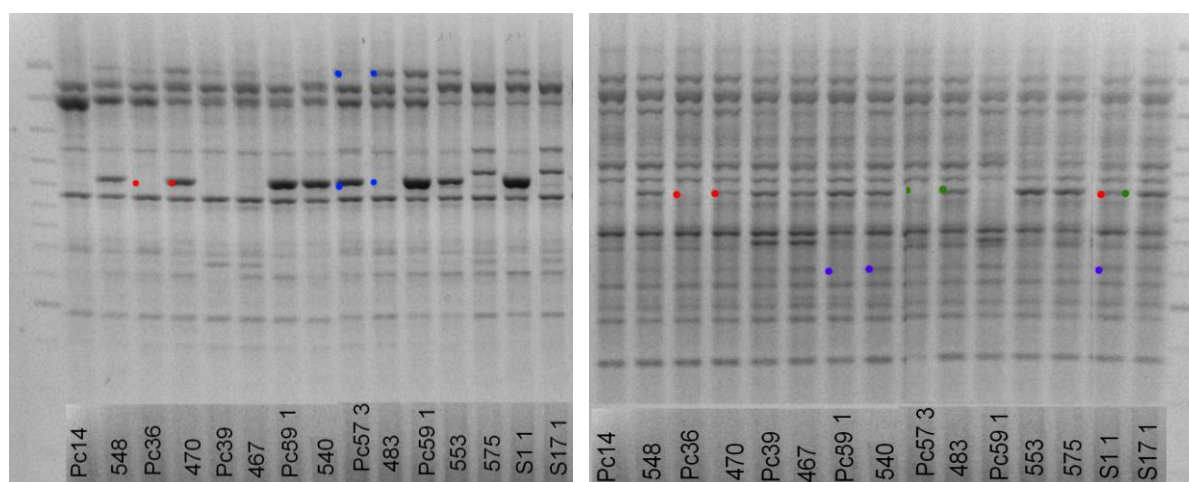
## Wyniki

W celu potwierdzenia mieszańcowego pochodzenia wybranych 7 kombinacji roślin odpornych i porażonych przeprowadzono reakcję PCR z wykorzystaniem starterów RAPD. Analizy przeprowadzono dla wytypowanych mieszańców 467, 470, 483, 540, 548, 553, 575 oraz ich form rodzicielskich. Analizę wykonano dla 30 starterów, z których 16 potwierdziło mieszańcowy charakter co najmniej dwóch kombinacji. Startery potwierdzające mieszańcowy charakter zaledwie jednej kombinacji odrzucono z analizy. Wyjątkiem był starter C20, który niepodważalnie potwierdzał mieszańcowe pochodzenie kombinacji 548.

Tab.5. Produkty RAPD potwierdzające mieszańcowy charakter roślin pokolenia F<sub>1</sub>.

Lp.	Starter	467 (937xPc39)	470 (Pc36xS1)	483 (Pc57xS1)	540 (S1xPc59)	548 (S1xPc14)	553 (S1xPc59)	575 (S17xPc59)	Suma
1	A7	0	660	660	0	690	0	0	3
2	A8	0	0	0	710	0	710	0	2
3	A16	1350	860	0	0	0	0	1000	3
4	A18	0	1000	1050	0	0	0	0	2
5	B19	500	0	850, 1050	0	1100	0	0	3
6	C7	0	0	850	1200	0	1200	1200	4
7	C9	1500	0	1500	0	0	1300	1300	4
8	C16	0	800	0	0	1000	0	0	2
9	C20	0	0	0	0	760	0	0	1
10	D10	500	0	2200	820	1700	820	820	6
11	F3	0	680, 1000	1000	530	500	530, 1100	530, 1100	6
12	H3	0	590	780	0	0	1100	1100	4
13	H11	0	1020	1020	0	0	0	0	2
14	K9	0	0	0	0	700	630	630	3
15	K10	0	930	1050	600	0	0	0	3
16	W19	0	1400	950	1500	0	1500	0	4
		4	9	11	6	7	8	7	

Analizując uzyskany polimorfizm poszukiwano takich odcinków DNA, które ulegały amplifikacji zarówno u form ojcowskich, jak i mieszańców, natomiast nie były obecne u form matecznych (Fot.1.). Zidentyfikowano 56 takich produktów, średnio 8 na kombinację, od 4 dla kombinacji 467 do 11 dla 483 (Tab. 8).



Fot.1. Produkty RAPD uzyskane w wyniku amplifikacji u badanych mieszańców oraz form rodzicielskich przy użyciu starterów H11 i K10. Kropkami oznaczono produkty potwierdzające mieszańcowy charakter kombinacji.

Z uwagi na to, że każda z analizowanych form była efektem udanego krzyżowania do dalszych rozmnożeń i analiz wybrano kombinacje 483, 540, 553 oraz 575. Wyboru dokonano na podstawie efektywności genów odporności. *Pc57* i *Pc59* uznano za najbardziej perspektywiczne i możliwe do wykorzystania w piramidyzacji genów odporności.

Analiza mikromacierzy DArT 44 osobników pokolenia  $F_2$  - homozygot względem genu *Pc39*, wykazała polimorfizm 374 sond. W przypadku dwóch sond segregacja była w pełni zgodna z obecnością lub brakiem genu *Pc39*: 412309 (oPt-9004) oraz 467871 (oPt-17172).

Do przeprowadzenia reakcji w celu poszukiwania markerów dla genu *Pc39* użyto również starterów typu RGA o sekwencjach dostępnych w literaturze (Tab.6.).

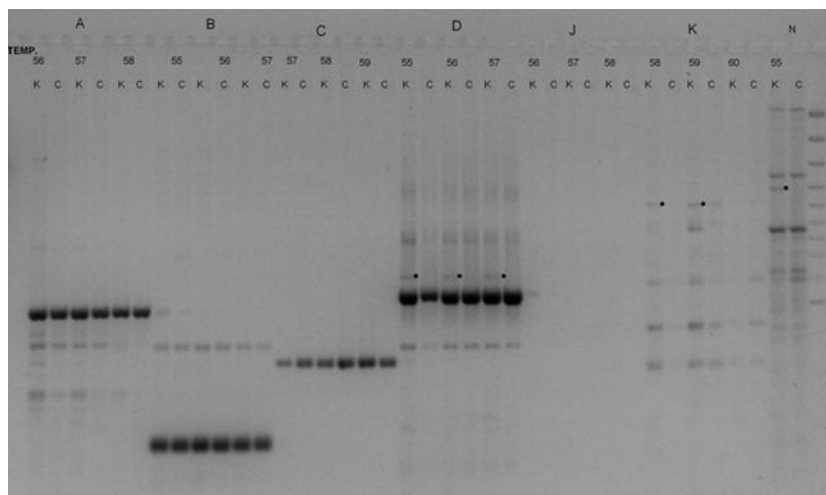
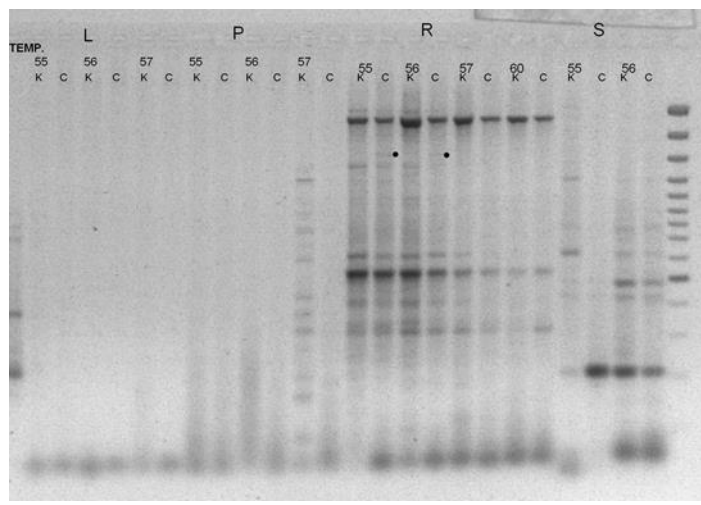
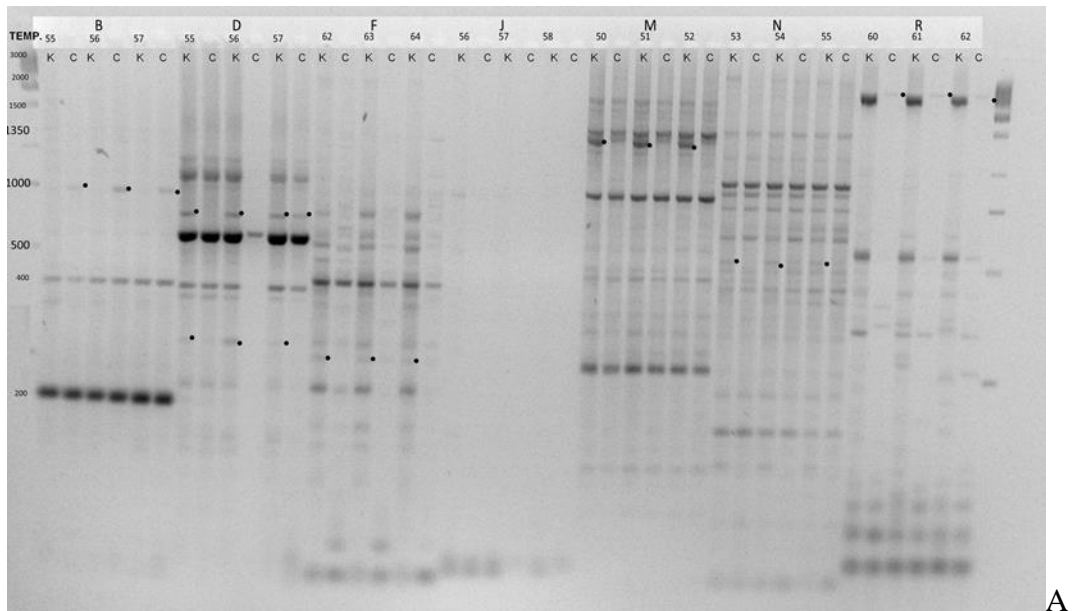
Tab.6. Startery do reakcji typu RGA.

Oznaczenie	Nazwa	Sekwencja	Liczba nt	Tm	Region konserwatywny
A	F_L7M2.2_460	GCAAGCACTGCAGCTATGC	19	65	
A	R_L7M2.2_460	TCATCAACCCGACAACACTAG	19	59	
B	F_L7M2.2-sg	CGAAGCTAAAGGGCATGCCTAG	22	68	
B	R_L7M2.2-sg	TCTTCACGAGGTTTGCCGCT	20	69	
C	F_L7M2.2-MN	AAATCATCATTTCCGCTGGATC	22	66	
C	R_L7M2.2-MN	CCAGATGATGTAGCTCTAGTTGA	23	60	
D	F_L7M2.3_580	GCAACAGCACTGGGCTCTG	19	67	
D	R_L7M2.3_580	TGCTGGTTCCTTGACATGAC	19	65	
F	RGA_S2	GGTGGGGTTGGGAAGACAACG	21	72	NBS

Oznaczenie	Nazwa	Sekwencja	Liczba nt	Tm	Region konserwatywny
F	RGA_A2	CAACGCTAGTGGCAATCC	18	62	NBS
G	RGA_S3	GGNATGGGNGGNTTNGGNAARACNCAN	27	63	P-loop
G	RGA_AS3	TCNCGNATNATNTTNACNACNCGN	24	47	Kinase-3a
H	RGA_F_K1a	GGNATGGGNGGNTTNGGNAARCANAC	26	57,5	Kinase-1a
H	RGA_R_D2	NCAWTTNAGNGCNAGNGGNAGNCC	24	51	Domain2
J	RGA_R11F	AACCCAATTCCACCTCTTTTACA	23	64	NBS-LRR
J	RGA_R11R	TTCCCCTTGCAATAGTCACCATAG	24	67	NBS-LRR
K	RGA_R2F	CTATGGTGACTATTGCAAGGGGAA	24	67	NBS-LRR
K	RGA_R2R	ATTGTGATTGATGGCATGTCTACG	24	67	NBS-LRR
L	RGA_OF	CCTCGATGCAATAACTAATTT	21	57	NBS
L	RGA_OR	TCTGTTTGCATCATCAATGT	20	59	NBS
M	RGA_NF	TAGGGCCTCTTGCTACGT	18	60	LRR
M	RGA_NR	TATAAAAAGTGGCGGACT	18	55	LRR
N	RGA_3LF	CCTTKCCTTMGAGCTTTGTAT	21	50	NBS-LRR
N	RGA_3LR	GCTTCCTTTCCTCCCCMAC	20	66	NBS-LRR
P	RGA_R4-2F	CAGCAGCCTAAGATTCTCCTA	22	63,5	LRR
P	RGA_R4-2R	TGTGCAGAACCTCCAATGATAC	22	64	LRR
R	RGA_R4-3F	AGGGCTTGCAAATATTAGACCTC	23	63	Kinase
R	RGA_R4-3R	CTCTAGCAGATGTTTGTGTGTGC	23	64	Kinase
S	RGA_R4-4F	ACCTCTCTGGCACAATGATAAAA	23	63,5	LRR
S	RGA_R4-4R	AGACTTGGCCTTGTCATCATAA	23	63,5	LRR

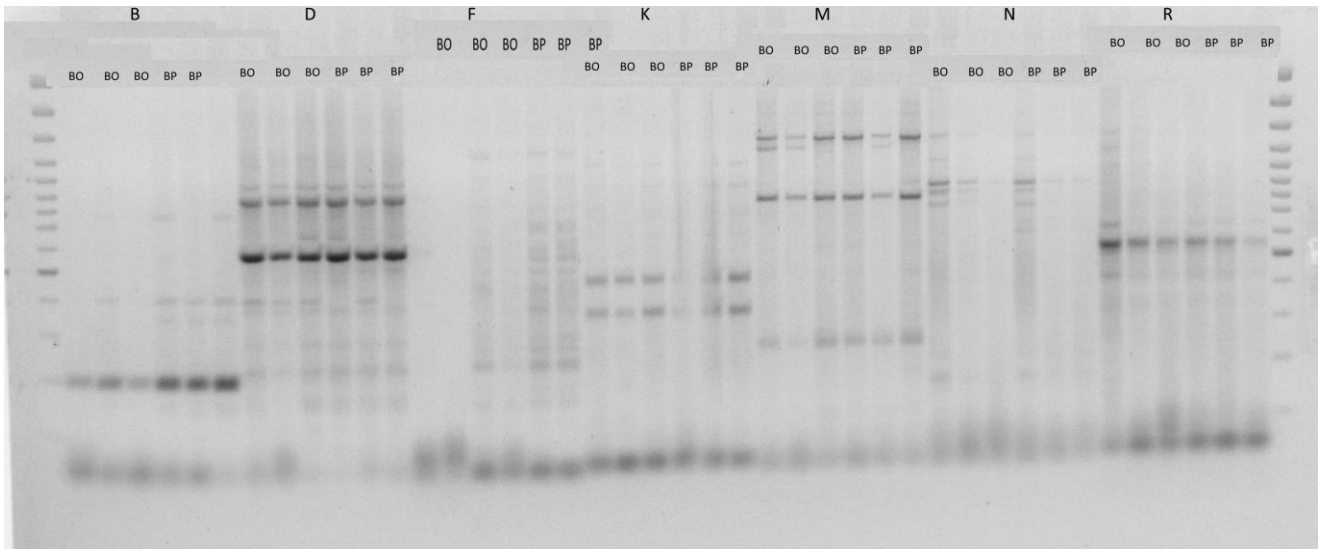
Pierwszym etapem doświadczenia była optymalizacja warunków reakcji. W tym celu analizując DNA form rodzicielskich populacji mapującej: cv. 'Celer' i STH 9210 nastawiono reakcję PCR w gradiencie temperatury annealingu dla każdej pary starterów RGA w zakresie dziewięciu stopni Celsjusza.

Spośród testowanych par starterów na podstawie zdjęć rozdzielów elektroforetycznych wyselekcjonowano 13: A, B, C, D, F, J, K, L, M, N, P, R, S – będących potencjalnymi markerami dla odporności warunkowanej obecnością genu *Pc39* i wybrano dla każdej z par trzy, zbliżone do optymalnej, temperatury przebiegu reakcji, w których pojawiły się różnicujące fragmenty DNA. W celu skontrolowania powtarzalności wyniku powtórnie użyto par starterów: B, D, J, N i R. Po przeprowadzeniu reakcji PCR produkty rozdzielono elektroforetycznie (Fot.2.) i po zweryfikowaniu powtarzalności pojawiających się wzorów prążkowych wybrano 7 par starterów: B, D, F, K, M, N, R, z użyciem których przetestowano trzy porażone i trzy odporne próby zbiorcze przygotowane zgodnie z metodą BSA. W celu identyfikacji polimorfizmów występujących pomiędzy osobnikami odpornymi i nieodpornymi przeprowadzono rozdziel elektroforetyczny. Ze względu na niepowtarzalność wzorów prążkowych reakcję przeprowadzono ponownie w tych samych warunkach z użyciem nowych rozcieńczeń DNA testowanych roślin. Przeanalizowano powtórnie produkty reakcji (Fot.3.) i powtórnie nie odnaleziono potencjalnych markerów sprzężonych z genem odporności. Ostatnim etapem było ponowne przetestowanie pary starterów - D, która na podstawie pierwszych analiz w największym stopniu rokowała jako potencjalny marker, poszerzając liczbę analizowanych genotypów do 10 odpornych i dziesięciu porażonych homozygot populacji mapującej. Produkty reakcji rozdzielono (Fot.4.) i na podstawie analizy zdjęć tego rozdzielu ponownie nie stwierdzono obecności prążków polimorficznych.

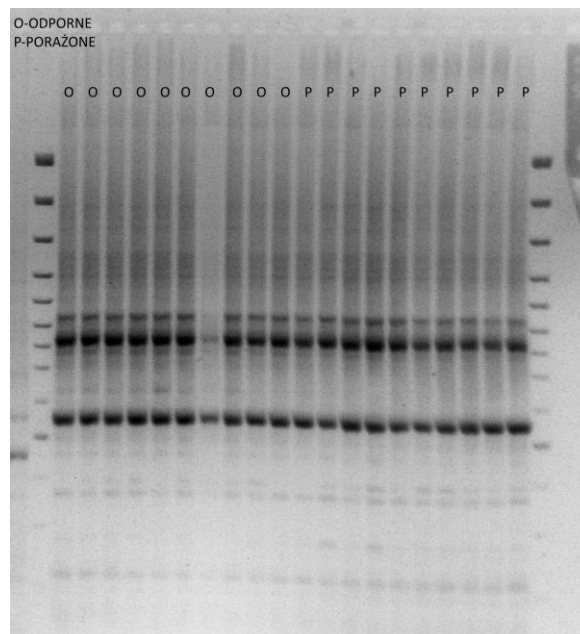


Fot.2. A.B.C. Rozdziel elektroforetyczny produktów uzyskanych w wyniku amplifikacji RGA-PCR w gradiencie temperatur DNA form rodzicielskich populacji mapującej E310 przy użyciu starterów: A, B, C, D, F, J, K, L, M, N, P, R, S. Kropkami oznaczono fragmenty różnicujące będące potencjalnymi markerami dla odporowanej obecności genu *Pc39*. Oznaczenia poszczególnych ścieżek: K- STH 9210, C-cv. 'Celer'.





Fot. 3. Produkty RGA-PCR uzyskane w wyniku amplifikacji DNA prób zbiorczych roślin odpornych i porażonych pokolenia F<sub>2</sub> populacji E310 przy użyciu starterów B, D, F, K, M, N, R. Oznaczenia poszczególnych ścieżek: BO – próba zbiorcza (Bulk) homozygot odpornych populacji E310, BP – próba zbiorcza (Bulk) homozygot porażonych populacji E310.



Fot. 4. Amplifikacja RGA-PCR przy udziale pary starterów D DNA homozygotycznych osobników odpornych i porażonych populacji E310.

Celem tematu badawczego 3 była również identyfikacja markerów DArTseq i silico DArT dla genu *Pc39* w populacji Celer x STH 9210 i ich konwersja do warunków specyficznego PCR. Analizę segregacji markerów DArTseq i silicoDArT w badanej populacji prowadzono pod kątem identyfikacji tych markerów, których segregacja odpowiadała homozygotycznym

genotypom roślin odpornych i porażonych. Zidentyfikowano 13 sekwencji DArTseq oraz 31 silicoDArT (Tab. 10).

Tab.7. Sekwencje DArTseq segregujące w homozygotycznych liniach populacji E310 zgodnie z genem odporności *Pc39*.

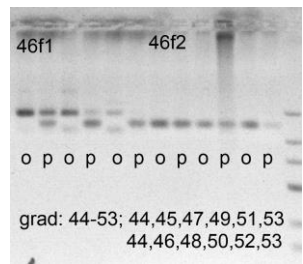
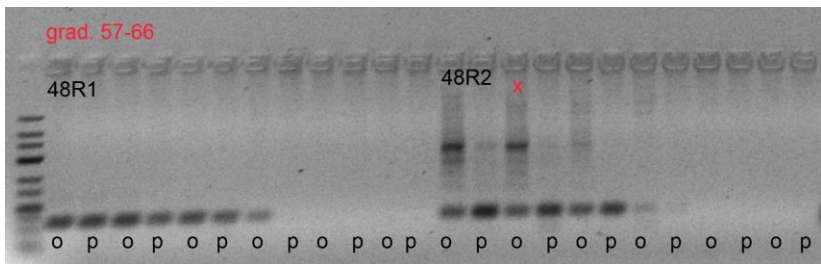
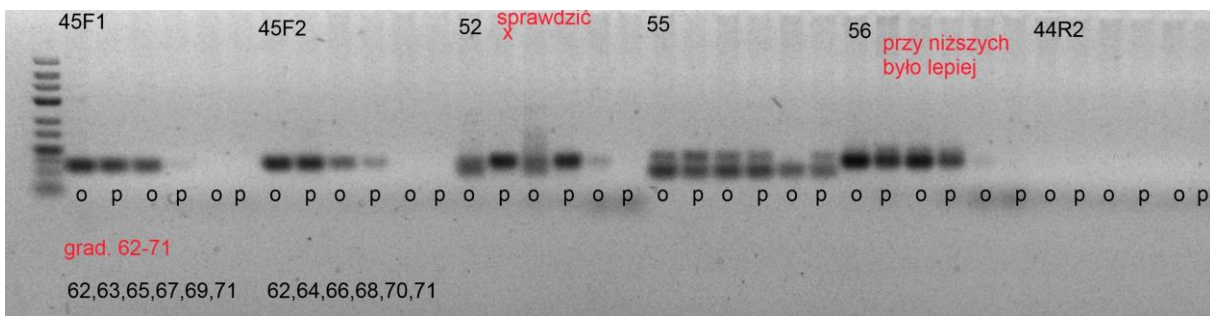
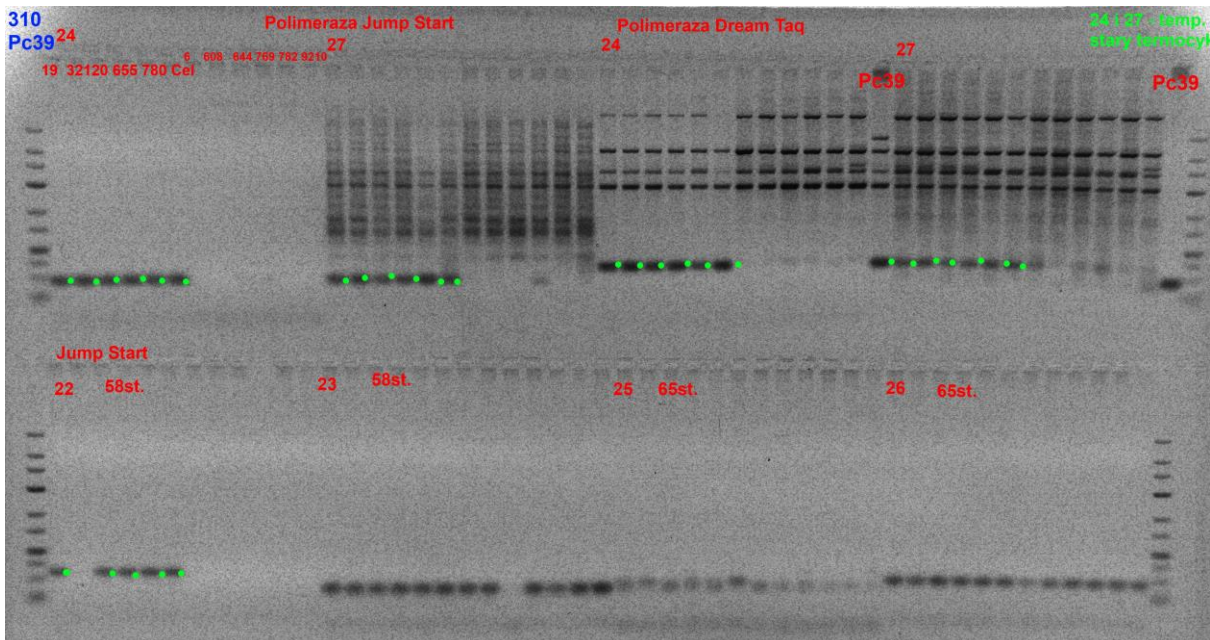
Sekwencja DArTseq	Sekwencja silicoDArT
3457217 F 0--22:T>C	3456624 F 0
3457217 F 0-22:T>C-22:T>C	3454401 F 0
3458005 F 0--25:G>T	3456272 F 0
3458005 F 0-25:G>T-25:G>T	3455622 F 0
3459473 F 0--46:A>G	3282296 F 0
3459473 F 0-46:A>G-46:A>G	3454180 F 0
3456430 F 0--54:T>A	3454823 F 0
3456430 F 0-54:T>A-54:T>A	3454695 F 0
3457355 F 0--11:T>C	3282501 F 0
3457355 F 0-11:T>C-11:T>C	3455639 F 0
3457455 F 0--54:C>A	3455834 F 0
3457455 F 0-54:C>A-54:C>A	3455725 F 0
3457685 F 0--51:A>T	3277488 F 0
3457685 F 0-51:A>T-51:A>T	3454210 F 0
3457768 F 0--68:A>C	3455782 F 0
3457768 F 0-68:A>C-68:A>C	3454271 F 0
3458768 F 0--42:C>G	3455780 F 0
3458768 F 0-42:C>G-42:C>G	3279713 F 0
3459167 F 0--46:A>G	3454010 F 0
3459167 F 0-46:A>G-46:A>G	3455021 F 0
3457810 F 0--52:C>A	3453998 F 0
3459357 F 0-55:G>C-55:G>C	3280216 F 0
3282731 F 0-44:G>A-44:G>A	3282919 F 0
3282731 F 0--44:G>A	3454302 F 0
	3455287 F 0
	3455125 F 0
	3455447 F 0
	3455136 F 0
	3455179 F 0
	3455032 F 0
	3456198 F 0

Dla 7 sekwencji DArTseq zaprojektowano startery typu ASA, identyfikujące allel recesywny lub dominujący genu (Tab. 11). W kolejnym etapie przeanalizowano sekwencje silicoDArT. Na podstawie 9 sekwencji silicoDArT zaprojektowano startery do reakcji typu STS (Tab. 11).

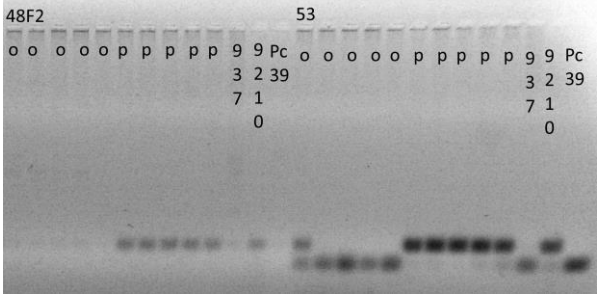
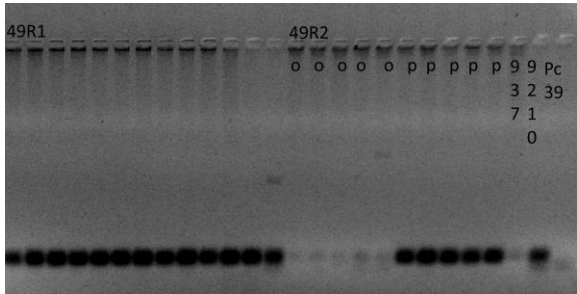
Tab.8. Zaprojektowane startery do reakcji typu ASA i STS.

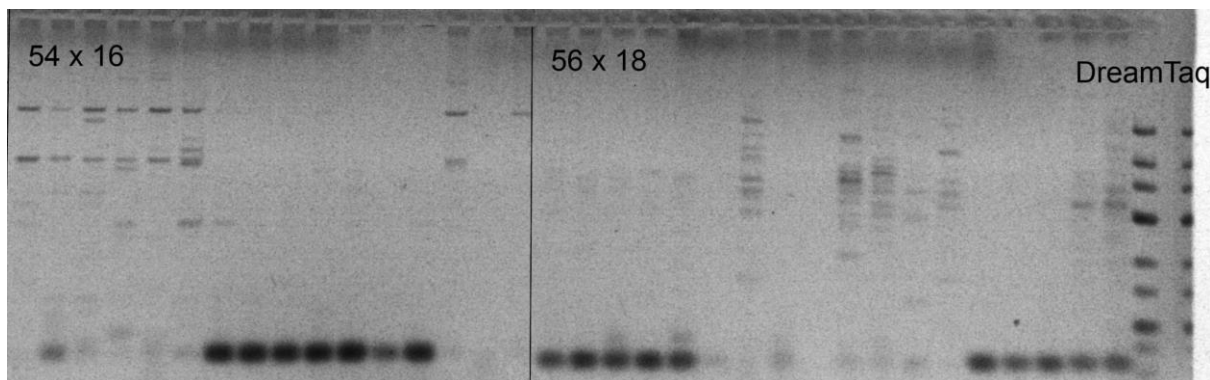
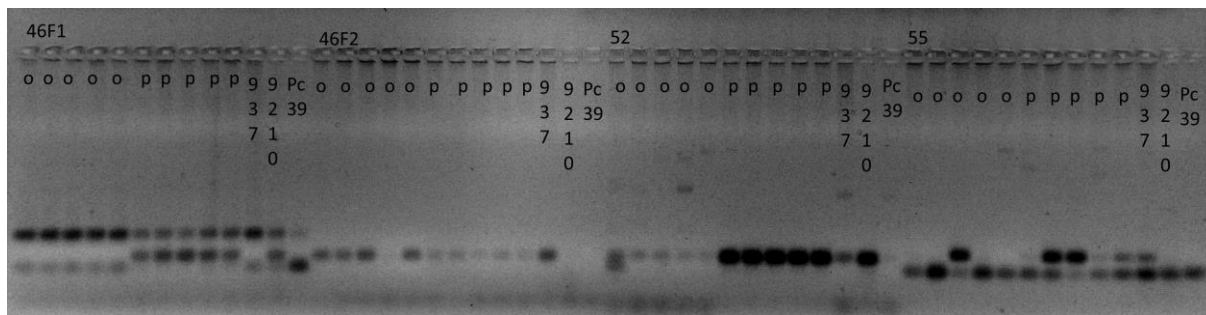
Nr laboratoryjny	Nazwa sekwencji	Sekwencja startera: (5' - 3')	Liczba nukleotydów	Tm
44_F1	F1_3282731	TTCGGACATCGATTTTCGCTTG	21	69
44_R1	R1_3282731	CTGGAAGGCCTATCCTCCACC	21	68
44_R2	R2_3282731	CTGGAAGGCCTATCCTCCATC	21	66
45_F1	F1_3457217	TGCAGCAATTGAGGAAAAAGAAT	23	65,5
45_R1	R1_3457217	GGCAAAGCAAGGCCGAATACT	21	68
45_F2	F2_3457217	TGCAGCAATTGAGGAAAAAGAAC	23	66
46_F1	F1_3458005	CTAATTTCTGCGTTTTCTATG	21	56
46_R1	R1_3458005	AAACCATAGAAATGATATGT	20	50
46_F2	F2_3458005	CTAATTTCTGCGTTTTCTATT	21	55
47_F1	F1_3456430	TGCAGCAGGTCAGCG	15	62,5
47_R1	R1_3456430	GTGGTCTCGTGTCCAGCA	18	64
47_R2	R2_3456430	GTGGTCTCGTGTCCCTGCA	18	64
48_F1	F1_3457685	CAGGTGTTGGCCCAT	15	59
48_R1	R1_3457685	GGGGTTCATCATTTAGTTCA	20	59
48_R2	R2_3457685	GGGGTTCATCATTTAGTACA	20	56,5
49_F1	F1_3458768	TGCAGGACAACCTGGTCGCTT	21	71
49_R1	R1_3458768	GCAGCTTGCCAGGGATCCGC	20	75
49_R2	R2_3458768	GCAGCTTGCCAGGGATCCCC	20	74
50_F1	F1_3459167	CCTCGATGTAAACGCAAGCAA	21	67
50_R1	R1_3459167	TGGGTGGTTCAGTAGATGGATTT	23	65
50_R2	R2_3459167	TGGGTGGTTCAGTAGATGGATTC	23	66
51_F	F_3454210	GCTGTTGTTGTTGCGGACAGTAG	23	68
51_R	R_3454210	GCCATCTTCTGCTGGCCATGGAT	23	74
52_F	F_3455782	GATCGAGCTGCATGCGTACT	20	65,5
52_R	R_3455782	CCTGCCTGCACGATACACG	19	68
53_F	F_3279713	TGCAGGTAGATCTTTTCTTCCCAA	24	66,5
53_R	R_3279713	CTCGGCCCATTTCCCATCTTG	20	71
54_F	F_3455021	TGCAGGCAGCTACTGCGATCC	21	72
54_R	R_3455021	GGTCGGCAGGTTCTGTTCGT	20	69
55_F	F_3282919	GGAGCAATCGACGAGCAGTAG	21	66
55_R	R_3282919	TTCCTGCTGAACCGCTCTTCC	21	70

W pierwszym etapie oceny starterów przeprowadzono reakcje dla form rodzicielskich, jednocześnie testowano różne przedziały temperatur przyłączania starterów. W efekcie tych reakcji dla każdej pary starterów ustalono optymalną temperaturę annealingu (Fot. 5). W reakcji amplifikacji wykorzystano trzy różne polimerazy. Najlepsze efekty uzyskano dla polimerazy JumpStart (Sigma). Przeprowadzone analizy dostarczyły wstępnej informacji o przydatności poszczególnych starterów do identyfikacji genu *Pc39*.



Fot. 5. Amplifikacja ASA w gradiencie temperatury. Wstępne testowanie par starterów na DNA form rodzicielskich – odpornej i porażonej.





Fot. 6. Testowanie homozygotycznych osobników odpornych i porażonych z wstępnie wytypowanymi parami starterów – potencjalnymi markerami dla *Pc39*.

Po ustaleniu optymalnej temperatury przyłączenia startera prowadzono reakcję z DNA pojedynczych roślin odpornych i porażonych w celu sprawdzenia, czy segregacja potencjalnego markera dla genu *Pc39* jest zgodna z segregacją fenotypów roślin (Fot. 6).

## Dyskusja

Pojawianie się nowych form patogenów przełamujących odporność efektywnych dotychczas genów jest poważnym problemem nowoczesnej hodowli roślin. Stale prowadzone są nie tylko poszukiwania nowych źródeł odporności, ale również próby piramidyzacji dostępnych genów.

Aby ograniczyć testy fizjologiczne żywiciel-patogen celem projektu, jest opracowanie markerów sprzężonych z efektywnymi genami odporności przeznaczonymi do piramidyzacji. Markery takie są niezbędne do monitorowania przepływu genów u mieszańców podczas zarówno krzyżowań prostych, jak i wypierających. Niezmiernie istotne jest, aby dla poszczególnych źródeł odporności zidentyfikować i opracować markery molekularne, które umożliwiłyby kumulację pożądaných alleli w mieszańcach. Markery molekularne opracowano m.in. dla genów: *Pc38*, *Pc39* i *Pc48* (Wight i in. 2005), *Pc68* (Chen et al. 2006; Satheeskumar et al. 2011), *Pc71* (Bush and Wise 1998), *Pc92* (Rooney et al. 1994b) i *Pc94* (Chong et al. 2004) Są to markery typu: RFLP, RAPD, AFLP i DArT. Dla genów *Pc68*, *Pc91* i *Pc94* zidentyfikowano również markery typu SNP bazujące na polimorfizmie pojedynczego nukleotydu w obrębie sekwencji DNA (Gnanesh i in., 2013, 2014). Wyżej wymienione typy markerów, z wyjątkiem SNP, są markerami dominującymi i nie nadają się do identyfikacji homozygot i heterozygot. Markery takie nie nadają się również do szybkiego genotypowania dużych populacji z uwagi na ich złożony charakter i pracochłonność metod. Kolejnym problemem jest niepełne sprzężenie markerów z genem. Żaden z markerów nie trafia

bezpośrednio w sekwencji zmutowanego genu. Ponadto z uwagi na to, że wyżej wymienione markery zostały opracowane na odmiennych genetycznie materiałach aniżeli pula genowa polskich odmian, sekwencje towarzyszące genom odporności w krajowych materiałach mogą być zupełnie inne.

Rośliny posiadają efektywne mechanizmy umożliwiające rozpoznanie patogenu i reakcję na infekcję. Specyficzną rolę w odporności na patogeny odgrywają geny odporności (Sekhwal i in., 2015). Nie są znane podstawy odporności różnych gatunków na różnorodne patogeny, niemniej jednak na podstawie zidentyfikowanych genów warunkujących odporność wyodrębniono pewne domeny i motywy występujące w strukturze genów odporności i tego typu sekwencje określono jako analogi genów odporności (RGA). Opierając się na ich stałych cechach strukturalnych można je podzielić na dwie główne grupy posiadające odpowiednio: miejsce wiązania nukleotydu oraz powtórzenia bogate w leucynę – NBS-LRR lub transbłonowe powtórzenia bogate w leucynę – TM-LRR (Sekhwal i in., 2015). Startery dla analogów genów odporności (RGA) wykorzystane w trakcie badań nie pozwoliły na identyfikację produktu charakterystycznego dla form odpornych lub porażonych. Odpowiednia modyfikacja użytych sekwencji starterów za pomocą narzędzi bioinformatycznych umożliwi zwiększenie specyficzności reakcji. Metoda RGA-PCR stanowi potencjalne narzędzie do selekcji markerów dla genów odporności, niemniej jednak wymaga opracowania własnych sekwencji starterów na podstawie informacji dostępnych w bazach danych ze szczególnym uwzględnieniem sekwencji dla traw i roślin zbożowych.

## Wnioski

1. Metoda RGA-PCR stanowi potencjalne narzędzie do selekcji markerów dla genów odporności, niemniej jednak wymaga opracowania własnych sekwencji starterów.
2. Najlepszym typem markera byłby marker allelospecyficzny zaprojektowany w oparciu o sekwencje DArTseq, niestety żadnej z sekwencji nie udało się skutecznie przekonwertować do warunków allelospecyficznej amplifikacji.
3. Aby potwierdzić skuteczność uzyskanych markerów należy przeprowadzić identyfikację homozygot odpornych i porażonych przy ich udziale, a następnie potwierdzić fenotyp wytypowanych homozygot w teście żywiciel-patogen.
4. Należy również sprawdzić czy marker ulega amplifikacji w innych populacjach mieszańcowych zawierających jako komponent rodzicielski, a jednocześnie źródło odporności na rdze koronową, odmianę *Celer* lub linię *Pc39*.
5. Wartość markera można również zweryfikować poprzez sprawdzenie czy marker ulega amplifikacji w materiałach hodowlanych lub odmianach zagranicznych zawierających gen *Pc39*.

## Literatura

1. Bush A.L., Wise R.P. 1998. High-resolution mapping adjacent to the *Pc71* crown-rust resistance locus in hexaploid oat. *Mol Breed* 4(1):13–21.
2. Chen G., Chong J., Gray M., Prashar S., Procnier J.D. 2006. Identification of single-nucleotide polymorphisms linked to resistance gene *Pc68* to crown rust in cultivated oat. *Can J Plant Pathol* 28(2):214–222.
3. Chong J., Reimer E., Somers D., Aung T., Penner G.A. 2004. Development of sequence-characterized amplified region (SCAR) markers for resistance gene *Pc94* to crown rust in oat. *Can J Plant Pathol* 26(1):89–96
4. Gnanesh B. N., Fetch J. M., Zegeye T., McCartney C. A., Fetch T. 2014. Alien gene transfer in crop plants, Chapter 3 Oat: 51 – 73.

- Gnanesh B.N., Fetch J.M., Menzies J.G., Beattie A.D., Eckstein P.E., McCartney C.A. 2013. Chromosome location and allele-specific PCR markers for marker-assisted selection of the oat crown rust resistance gene *Pc91*. *Mol Breeding* 32:679–686.
- Rooney W.L., Rines H.W., Phillips R.L. 1994b. Identification of RFLP markers linked to crown rust resistance genes *Pc91* and *Pc92* in oat. *Crop Sci* 34:940–944
- Satheeskumar S., Sharp P.J., Lagudah E.S., McIntosh R.A., Molnar S.J. 2011. Genetic association of crown rust resistance gene *Pc68*, storage protein loci, and resistance gene analogues in oats. *Genome* 54(6):484–497.
- Sekhwil M. K., Li P., Lam I., Wang X., Cloutier S., You F. M. 2015. Disease resistance gene analogs (RGA) in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 16: 19248 – 19290.
- Wight C.P., O'Donoghue L.S., Chong J., Tinker N.A., Molnar S.J. 2005. Discovery, localization and sequence characterization of molecular markers for the crown rust resistance genes *Pc38*, *Pc39* and *Pc48* in cultivated oat (*Avena sativa* L.). *Mol Breeding*, 4: 349-361.

### Mierniki dla tematu badawczego 3

Lp.	miernik	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana
1.	Liczba kombinacji F <sub>1</sub> sprawdzanych pod kątem mieszańcowego pochodzenia.	7	7
2.	Liczba testowanych par starterów RGA.	15	15
3.	Liczba form genotypowanych metodą mikromacierzy DArT	44	44
4.	Liczba konwertowanych sekwencji DArTseq lub silicoDArT	15	15

4. Mierniki dla zadania - planowana prezentacja wyników badań (podać w tabeli - należy wymienić konferencje, na których zaprezentowano wyniki i/lub wymienić publikacje, przygotowane i przyjęte do druku w trakcie realizacji zadania w danym roku).

Prezentacja wyników na konferencjach				
lp.	konferencja	miernik	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana
1	XII Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Nauka dla hodowli i nasiennictwa roślin uprawnych”, 2-6 lutego 2015 r., Zakopane <i>Wyniki uzyskane w ramach tematu bad. 3.3/2015 str. 32-33.</i>	poster	1	1
2	XIV International Cereal Rusts and Powdery Mildews Conference, 5-8 lipca 2015, Helsingør, Dania <i>Wyniki uzyskane w ramach tematu bad. 3.3/2015 str. 7-10.</i>	poster	1	1
lp.	monografia/czasopismo	miernik	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana
-	-	-	-	-

Jeśli któryś z mierników nie został zrealizowany należy podać przyczyny.

### Załączniki:

- Edyta Paczos-Grzęda, Sylwia Róg, Aneta Koroluk, Agnieszka Ostrowska, Maria Chrzęstek. 2015. Wyprowadzanie populacji mapujących dla genów odporności na rdzę koronową. XII Ogólnopolska

Konferencja Naukowa „Nauka dla hodowli i nasiennictwa roślin uprawnych”, 2-6 lutego 2015 r., Zakopane.

2. Edyta Paczos-Grzęda, Sylwia Róg, Aneta Koroluk, Sylwia Okoń, Agnieszka Ostrowska, Tomasz Ociepa, Patrycja Erdzik, Maria Chrząstek, Krzysztof Kowalczyk. 2015. Virulence structure of *Puccinia coronata* f.sp. *avenae* in Central and South Eastern Poland. XIV International Cereal Rusts and Powdery Mildews Conference, 5-8 lipca 2015, Helsingør, Dania.

5. Adres, pod którym wyniki badań są dostępne na stronie internetowej wnioskodawcy

<http://www.up.lublin.pl/badania-gen/>

Sporządzono:

Lublin 10.01.2016r.

Pieczęć jednostki

Osoba reprezentująca jednostkę

Kierownik zadania

data

podpis i pieczęć

podpis