

# **Kompleksowe badania odporności owsa na choroby grzybowe ze szczególnym uwzględnieniem *Puccinia coronata* f. sp. *avenae***

Numer zadania: 15

Okres realizacji: 2021 - 2027

Wykonawcy projektu:

**dr hab. Edyta Paczos-Grzęda, prof. uczelni – kierownik projektu (edyta.paczos@up.lublin.pl)**

**dr inż. Sylwia Sowa**

**mgr inż. Aneta Koroluk**

**mgr inż. Joanna Lech**

**Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii  
Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie**

**dr hab. Maja Boczkowska, prof. IHAR**

**mgr Paulina Bolc**

**mgr Sylwia Kowalik**

**mgr Marta Puchta-Jasińska**

**IHAR Radzików, Krajowe Centrum Roślinnych  
Zasobów Genowych**

**prof. dr hab. Edyta Skrzypek**

**dr hab. Piotr Waligórski**

**dr hab. Marzena Warchoń**

**Instytut Fizjologii Roślin, PAN, Kraków**



<b>Lp.</b>	<b>Cele projektu:</b>	<b>Czy cel został zrealizowany</b>
<b>1</b>	Kompleksowa ocena odporności polskich odmian i materiałów hodowlanych owsa na choroby grzybowe wywoływane przez <i>P. coronata</i> , <i>P. graminis</i> oraz <i>B. graminis</i>	<b>TAK</b>
<b>2</b>	Opracowanie markerów molekularnych dla genów odporności na rdzę koronową <i>Pc51</i> i <i>Pc101</i>	<b>TAK</b>
<b>3</b>	Analiza porównawcza transkryptomu linii bliskoizogenicznych <i>Pc39/pc39</i> po infekcji <i>P. coronata</i>	<b>TAK</b>
<b>4</b>	Ocena zwartości związków o potencjale antyoksydacyjnym w liniach bliskoizogenicznych <i>Pc39/pc39</i>	<b>TAK</b>





## Materiał i metody

### Temat badawczy 1

#### Materiał:

- 500 odmian polskich i zagranicznych oraz polskich linii hodowlanych pochodzących z HR DANKO, HR Strzelce oraz MHR Polanowice
- Scharakteryzowane pod względem wirulencji izolaty *Puccinia coronata*, *Puccinia graminis*, *Blumeria graminis*

#### Metody:

- Test żywiciel patogen na płytkach na fragmentach liści z roślin 10-dniowych

### Temat badawczy 2

#### Materiał:

- populacje mapujące F<sub>3</sub>:  
634 (Pc51U x Kasztan), 635 (Pc51U x Bingo),  
848 (Kasztan x Pc101), 851 (Kasztan x Pc101)
- populacja F<sub>6</sub> Kasztan × Pc60

#### Metody:

- Klasyczny PCR
- Real-time PCR

### Temat badawczy 3

#### Materiał:

- Linie bliskoizogeniczne z genem *Pc39/pc39*

#### Metody:

- Analiza DEG (differentially expressed genes)

### Temat badawczy 4

#### Materiał:

- Linie bliskoizogeniczne z genem *Pc39/pc39*

#### Metody:

- Ocena zawartości związków fenolowych, hormonów: kwasów: salicylowego, jasmonowego i abscysynowego, całkowitej aktywności antyoksydacyjnej metodą DPPH, aktywności enzymów antyoksydacyjnych: katalazy, peroksydazy i dysmutazy ponadtlenkowej, zawartości białka



**Temat badawczy 1**
**Kompleksowa ocena odporności na choroby grzybowe odmian i linii *A. sativa*,  
genotypów *A. sterilis* i *A. byzantina***

- Kompleksowa ocena odporności polskich odmian i materiałów hodowlanych owsa zwyczajnego *A. sativa* na choroby grzybowe wywoływane przez *P. coronata*, *P. graminis* oraz *B. graminis*.

**Wyniki**

Na podstawie profilowania wirulencji izolatów wyprowadzonych z populacji poszczególnych patogenicznych grzybów wyselekcjonowano 18 izolatów (9 – *Pc*, 5 – *Pg* i 4 – *Bg*) o spectrach wirulencji reprezentatywnych dla obecnie występujących populacji, a jednocześnie umożliwiających postulowanie obecności konkretnych genów odporności R w badanych liniach i odmianach owsa. W sumie dokonano odczytów porażenia dla 2500 roślin i 45 000 fragmentów liści.

Wyselekcjonowane izolaty *P. coronata*, *P. graminis* i *B. graminis* zostały wykorzystane do charakterystyki odporności odmian i linii hodowlanych będących przedmiotem analiz w zadaniu nr 30 realizowanym w latach 2014-2020. W zestawie 500 obiektów znajdowały się odmiany polskie i zagraniczne oraz linie hodowlane. Materiały te zostały wówczas wybrane do analiz zróżnicowania genetycznego w oparciu o technologię DArTseq i reprezentowały pulę genetyczną wykorzystywaną w ówczesnym czasie w hodowli owsa. Niektóre z badanych linii zostały zgłoszone do badań rejestrowych COBORU, a niektóre stały się odmianami.

**Wnioski:**

1. Analizując odporność 500 badanych obiektów na *P. coronata* aż 198 z nich wykazało odporność na co najmniej jeden izolat.
2. Tylko jedna badana odmiana (Possum) posiadała niezidentyfikowaną odporność na wszystkie testowane izolaty *Pc*. Linii, które posiadały odporność przełamowaną zaledwie przez jeden izolat było 10, w tym cztery linie STH (3 x *Pc68*, 1 x *Pc?*).
3. Odporność na co najmniej jeden z testowanych izolatów *P. graminis* stwierdzono u 94 obiektów.
4. Odporność na wszystkie testowane izolaty *Pg* stwierdzono u 9 odmian i linii (odmiany australijskie – Possum i Quoll oraz amerykańskie: TAM312, HiFi i Gehl oraz cztery linie pochodzące ze Strzelec).
5. Analizując odporność badanych obiektów na *B. graminis* stwierdzono, że 57 z nich prezentuje odporność na co najmniej jeden izolat *Bg*.
6. Cztery badane odmiany i linie posiadały odporność na wszystkie testowane izolaty *Pm* (*Pm7*) (Canyon, 2 linie STH i 1 MHR).
7. Po przeanalizowaniu reakcji 500 badanych linii i odmian na porażenie 18 izolatami *P. coronata*, *P. graminis* i *B. graminis* u czterech stwierdzono odporność na co najmniej jeden z izolatów każdego gatunku grzyba (2 linie CHD i 2 linie STH).

Tab. 1. Izolaty *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* wybrane do analiz

Gatunek patogenu	Skrót literowy	Nazwa izolatu
<i>Puccinia coronata</i> f. sp. <i>avenae</i>	<i>Pc</i>	1. <i>Pc_230</i> 2. <i>Pc_257</i> 3. <i>Pc_241</i> 4. <i>Pc_94(63)</i> 5. <i>Pc_56</i> 6. <i>Pc_94_1/4</i> 7. <i>Pc_58 St18/5</i> 8. <i>Pc_3_2</i> 9. <i>Pc_P3_2/9</i>
<i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>avenae</i>	<i>Pg</i>	1. <i>Pg_S.18/3</i> 2. <i>Pg_K.18/1</i> 3. <i>Pg_Cz.18/3</i> 4. <i>Pg_S18/2</i> 5. <i>Pg_Ozarów 18</i>
<i>Blumeria graminis</i> f. sp. <i>avenae</i>	<i>Bg</i>	1. <i>Pm_Cz.17/5a</i> 2. <i>Pm_K.18.2</i> 3. <i>Pm_AberT/5</i> 4. <i>Pm_Pol.18.2</i>



**Temat badawczy 2**
**Opracowanie selekcyjnych markerów molekularnych dla genów odporności na rdzę koronową *Pc51* i *Pc101* w oparciu o analizy genomu**

- Określenie fenotypu *Pc51/pc51* oraz *Pc101/pc101* mieszańców F2 na podstawie segregacji pokolenia F3.
- Opracowanie selekcyjnych markerów molekularnych umożliwiających identyfikację genów odporności na rdzę koronową *Pc51* i *Pc101*.
- Kontynuacja rozmnożeń materiałów do planowanej analizy transkryptomicznej genu *Pc60* oraz mieszańców z genami *Pc68* oraz *Pc91* do opracowania markerów dla tych genów.

**Wyniki**

W teście żywiciel - patogen na podstawie segregacji potomstwa w pokoleniu F3 zostały określone genotypy 300 roślin F2 reprezentujących populacje z segregującym genem *Pc51*: 634 (*Pc51U* x Kasztan) i 635 (*Pc51U* x Bingo) oraz 300 roślin reprezentujących populacje z segregującym genem *Pc101*: 848 (Kasztan x *Pc101*) i 851 (Kasztan x *Pc101*) (tab.2). Zaobserwowany stosunek rozszczepień odpowiadał dziedziczeniu monogenicznemu 1:2:1, co potwierdzono testem Chi<sup>2</sup>.

Tab. 2. Segregacja pokolenia mieszańców F<sub>3</sub> na podstawie oceny linii F<sub>3</sub> pod względem odporności warunkowanej genem *Pc59*

Populacja	Kombinacja mieszańcowa	Fenotyp F <sub>2</sub> z testów F <sub>3</sub>			Suma testowanych linii F <sub>2</sub>	chi <sup>2</sup>	P-value
		Odporna	Porażona	Heterozygota			
634	<i>Pc51U</i> x Kasztan	26	34	53	113	0,736	0,69
635	<i>Pc51U</i> x Bingo	43	51	93	187	0,343	0,84
848	Kasztan x <i>Pc101</i>	42	40	72	154	0,349	0,84
851	Kasztan x <i>Pc101</i>	37	38	71	146	0,061	0,97
Suma					600		

Genotypowaniu metodą DArTseq poddano 82 linie reprezentujące populacje mapujące F2 z segregującym genem *Pc51* oraz 82 linie F2 z segregującym genem *Pc101*, a także formy rodzicielskie oraz zestaw 20 linii referencyjnych z genami *Pc*.

Odczytów typu silicoDArT otrzymano 37401, zaś DArTseq – 73234. Dane poddano filtrowaniu z zastosowaniem formuł umożliwiających określenie odległości markera od genu. Po porównaniu sekwencji z genomami owsa *A. sativa* Sang i Bingo wybrano po 4 markery.

Tab. 3. Sekwencje wyselekcjonowanych markerów DArTseq

Lp.	Gen	Sekwencja DArTseq	Pozycja SNP	Sekwencja 5'-3'
1	<i>Pc51</i>	2105439	56:C>T	TGCAGGAACAGAGAGACCAC <b>T</b> AGCGAGCACAGAGA GAAGTCAGTGGAGTCCAAGAACACCGTAGCGCCTCG TGCAGACAACCCTAACTGCGGCTCCAC <b>G</b> GCCGACGC CACCGTCGGGAGGGTCTTCGGGGCCTTCGCGCGC
2	<i>Pc51</i>	3225444	33:G>C	CTCGGTGTGCTCGGGCAGGTGCTGCCTCGGCCGTG TGGGAGTCGCCTTCTCCGCCAAGG <b>A</b> GGAGCATTT TGCAGGAGACGGCCCTCGCCGACGGTGTGCCTCGG CCAGGGACGTGCCCGGCCAGCCG <b>A</b> TAGGGT
3	<i>Pc51</i>	82137036	39:A>C	TGCAGGGA <b>G</b> GCAGAGAGCTCCTGGAGGTGGGGTCC ACCATTGGT <b>T</b> AGTCAGCACACACGTGCCCTCGTA TGCAGGT <b>C</b> GCTCCTGGTCCGCGCCTCGCGGTGTGCCT CCGTCCACCAT <b>T</b> GGTTAGTCTGATGCCAGCGCAGCTC
4	<i>Pc51</i>	50432061	63:T>G	TGCAGG <b>A</b> CGGCAGCATGAGCCGACCCGACCCGCGC ACCGTCAGTACCCTCGGTGTCATCGCAATCATA TGCAGG <b>A</b> CGGCAGCATGAGCCGACCCGACCCGCGC ACCGTCAGTACCCTCGGTGTCATCGCAATCATA
5	<i>Pc101</i>	79310581	8:G>A	TGCAGG <b>A</b> CGGCAGCATGAGCCGACCCGACCCGCGC ACCGTCAGTACCCTCGGTGTCATCGCAATCATA TGCAGG <b>A</b> CGGCAGCATGAGCCGACCCGACCCGCGC ACCGTCAGTACCCTCGGTGTCATCGCAATCATA
6	<i>Pc101</i>	08716619	10:T>G	TGCAGG <b>A</b> CGGCAGCATGAGCCGACCCGACCCGCGC ACCGTCAGTACCCTCGGTGTCATCGCAATCATA TGCAGG <b>A</b> CGGCAGCATGAGCCGACCCGACCCGCGC ACCGTCAGTACCCTCGGTGTCATCGCAATCATA
7	<i>Pc101</i>	12213752	16:A>C	TGCAGG <b>A</b> CGGCAGCATGAGCCGACCCGACCCGCGC ACCGTCAGTACCCTCGGTGTCATCGCAATCATA TGCAGG <b>A</b> CGGCAGCATGAGCCGACCCGACCCGCGC ACCGTCAGTACCCTCGGTGTCATCGCAATCATA
8	<i>Pc101</i>	28677980	45:G>A	TGCAGG <b>A</b> CGGCAGCATGAGCCGACCCGACCCGCGC ACCGTCAGTACCCTCGGTGTCATCGCAATCATA TGCAGG <b>A</b> CGGCAGCATGAGCCGACCCGACCCGCGC ACCGTCAGTACCCTCGGTGTCATCGCAATCATA

Do każdej sekwencji zaprojektowano około 20 par starterów. W sumie do identyfikacji markerów dla genu *Pc51* wykorzystano 88 kombinacji starterów, zaś *Pc101* – 120.



## Temat badawczy 2

# Opracowanie selekcyjnych markerów molekularnych dla genów odporności na rdzę koronową *Pc51* i *Pc101* w oparciu o analizy genomu

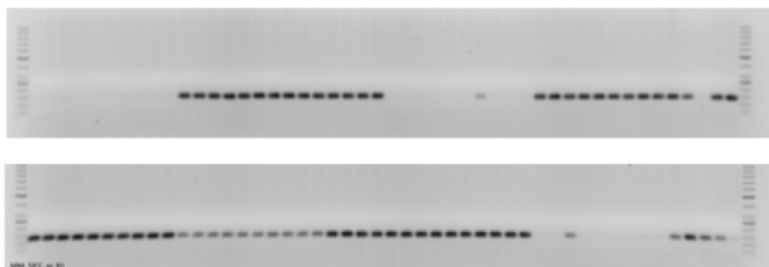
***Pc51*** Dla sześciu wybranych par starterów zaprojektowanych do sekwencji 2105439, 3225444, 82137036 uzyskano 100% lub niemal 100% zgodność segregacji markera z genotypem.

Poniżej przedstawiono efekt klasycznej reakcji PCR i elektroforegram produktów uzyskanych z parą starterów do sekwencji 2105439 (fot. 1) oraz tą samą reakcją wykonaną metodą real-time (rys. 1).

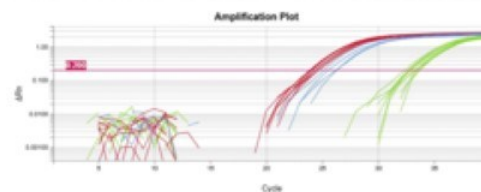
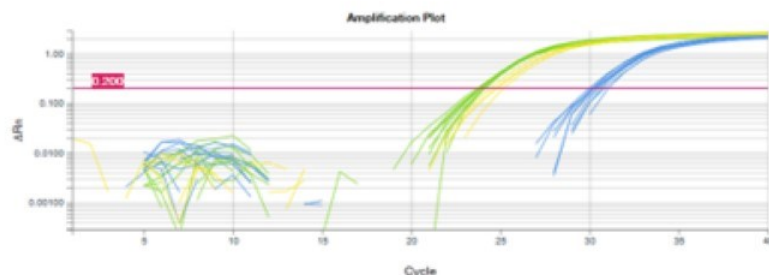
***Pc101*** Dla ośmiu par starterów zaprojektowanych do każdej z wybranych sekwencji DArTseq uzyskano 100% lub niemal 100% zgodność segregacji markera z genotypem. Poniżej jeden z markerów (fot. 2, rys. 2)

Fot. 2. Elektroforegram przedstawiający efekt amplifikacji uzyskany ze starterami zaprojektowanymi w oparciu o sekwencję DArTseq 286 77980 do identyfikacji genu *Pc101*.

Fot. 1. Elektroforegram przedstawiający efekt amplifikacji uzyskany ze starterami zaprojektowanymi w oparciu o sekwencję DArTseq 2105439 do identyfikacji genu *Pc51*.



Rys. 1. Wykres amplifikacji real-time dla populacji 634 (*Pc51U* x Bingo) z parą starterów 210\_F3 + 210\_R3aa – produkt wielkości 103 bp u odpornych (*Pc51*).



Rys. 2. Wykres amplifikacji real-time dla populacji 848 (Kasztan x *Pc101*) z parą starterów 286\_F2 + 286\_R1c – produkt wielkości 97 bp dla odpornych (*Pc101*) (górną), 286\_F2 + 286\_R1t dla porażonych (*pc101*) (dół).

## Wnioski

1. Zidentyfikowane sekwencje lokalizowały się na chromosomach wersji v.2 genomu owsa odmiany Sang i genomu odmiany Bingo.
2. Opracowano trzy kombinacje starterów umożliwiające identyfikację alleli genu *Pc51/pc51* oraz cztery kombinacje starterów identyfikujące allele *Pc101/pc101*.
3. Klasyczne markery PCR zaprojektowane do identyfikacji mutacji punktowych są bardzo pracochłonne w użyciu i trudne do interpretacji. Poszukiwanie alternatyw dla klasycznego PCR jest wskazane.
4. Wykorzystanie zaprojektowanych starterów – tylko w przypadku amplifikacji jednego fragmentu DNA – w reakcji real-time PCR ułatwia genotypowanie.



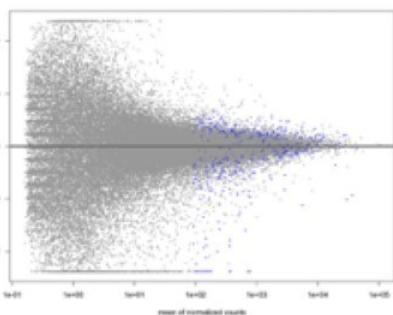
Temat badawczy 3

**Analiza porównawcza transkryptomu linii bliskoizogenicznych *Pc39/pc39* po infekcji *P. coronata***

- Identyfikacja transkryptów różnicujących linie bliskoizogeniczne *Pc39/pc39* po infekcji *P. coronata*

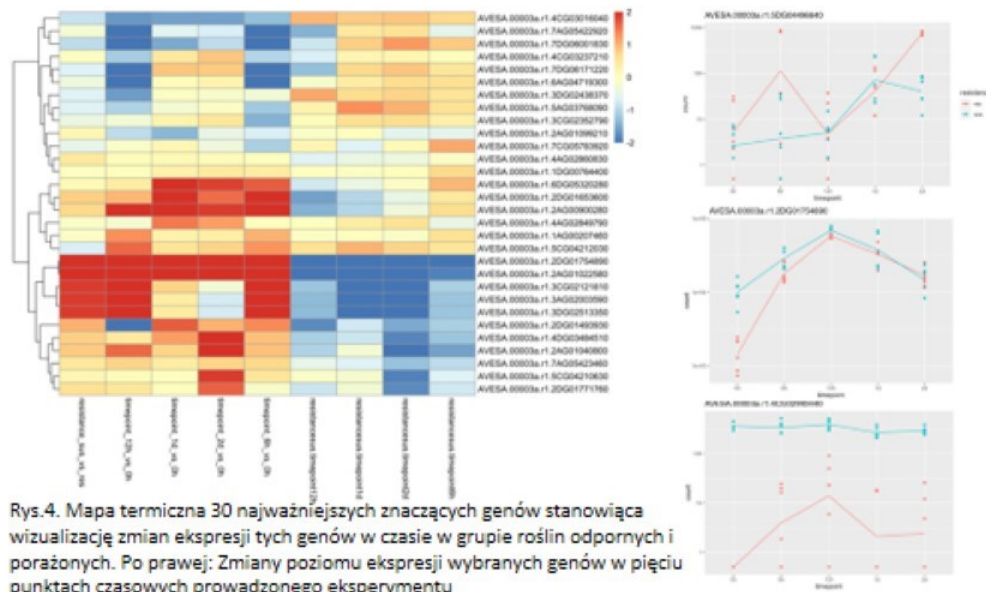
**Wyniki**

W pierwszym etapie obróbki danych wszystkie, uzyskane w analizie RNAseq przeprowadzonej w 2022 r., transkrypty zmapowano do genomu owsa i wykonano anotacje wykorzystując m.in. bazę UniProt oraz anotacje transkryptomu odmiany Bingo. W kolejnym etapie wygenerowano wykres MA (Blanda – Altmana), aby zwizualizować rozmieszczenie znaczących genów pomiędzy dwiema próbkami charakteryzującymi się odpornością lub podatnością (rys.3).



Rys.3. Wykres MA (Blanda – Altmana) przedstawiający rozmieszczenie znaczących genów pomiędzy roślinami odpornymi i wrażliwymi. Wykres przedstawia log-krotność zmiany dla każdego genu w porównaniu z jego średnią ekspresją we wszystkich próbkach w dwóch porównywanych warunkach.

W następnym etapie przeprowadzono wybór modelu analizy. Jako pierwszy zastosowano model uwzględniający odporność + punkt czasowy + zmiany odporności w czasie. Aby uzyskać lepszy wgląd we wzorce ekspresji genów, stworzono mapę cieplną 30 najważniejszych genów (rys. 4)



Rys.4. Mapa termiczna 30 najważniejszych znaczących genów stanowiąca wizualizację zmian ekspresji tych genów w czasie w grupie roślin odpornych i porażonych. Po prawej: Zmiany poziomu ekspresji wybranych genów w pięciu punktach czasowych prowadzonego eksperymentu

Stosując model pierwszy, uwzględniający zarówno efekty główne, jak i czas interakcji, uzyskano kompleksowy obraz wpływu tych czynników na ekspresję genów. Ogółem były to 52 znaczące geny (wartość  $p < 0,05$ , bezwzględna  $|lfc| > 1$ ), z których 6 uległo zwiększeniu, a pozostałe obniżeniu.

Stosując model drugi, w którym uwzględniono odporność i czas, liczba wszystkich znaczących genów wynosiła 1325. Następnie zidentyfikowano geny o zróżnicowanej ekspresji, w tym geny regulowane w górę i w dół, których było odpowiednio 190 i 186.

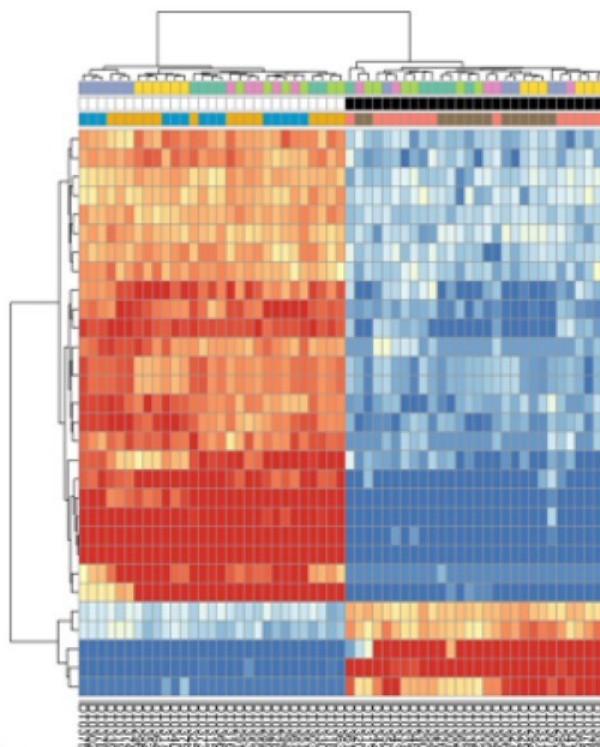


Temat badawczy 3

**Analiza porównawcza transkryptomu linii bliskoizogenicznych *Pc39/pc39* po infekcji *P. coronata***

**Wyniki**

W modelu trzecim w analizie różnicowej ekspresji genów brano pod uwagę jedynie „odporność”, bez uwzględnienia czynnika „czasu” i ich interakcji. Podobnie jak w przypadku dwóch poprzednich modeli zidentyfikowano geny o zróżnicowanej ekspresji, czyli geny o zwiększonej ekspresji (138 genów) i obniżonej ekspresji (105 genów) (rys. 5) (tab. 4).



Rys.5. Mapa termiczna przedstawiająca różnice w ekspresji genów pomiędzy liniami odpornymi i wrażliwymi oszacowane według modelu trzeciego

Tab. 4. Znaczące geny zidentyfikowane w analizie DEG przy zastosowaniu modelu pierwszego z zaznaczonymi genami, które zidentyfikowano równocześnie w modelu drugim (pomarańczowy)

Lp.	ID znaczących genów	log2 Fold Change Przyrost/Spadek	P-value adjoint	CHROMOSOM	EDS START	EDS END	EDS STRAND	Rodzaj transkryptu	Opis genu
1	AVESA.00003a.r1.1AG00124950	-1.324	0.018	chr1A	232704102	232704539	-	predicted_gene	HCCOXD-type acyl-transferase family protein
2	AVESA.00003a.r1.1AG00278040	6.825	0.034	chr1A	423282454	423282895	-	predicted_gene	Acid beta-fructofuranosidase, Glycoyl hydrolases family 32 protein
3	AVESA.00003a.r1.1AG00302129	-1.127	0.001	chr1A	468449981	468451084	-	predicted_gene	Unknown protein
4	AVESA.00003a.r1.1CG00382359	-4.467	0.001	chr2C	38170842	38170927	-	predicted_gene	Bovine Birk type trypsin inhibitor
5	AVESA.00003a.r1.1AG01022780	-1.858	0.000	chr2A	242766882	242767952	-	plastid_related	Photosystem II 10 kDa polypeptide, chloroplast; basic helix-loop helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein
6	AVESA.00003a.r1.1AG01040800	-1.591	0.000	chr2A	270438471	270438586	-	predicted_gene	Unknown protein
7	AVESA.00003a.r1.1AG01090080	-5.572	0.013	chr2A	342674630	342675050	-	predicted_gene	Chitinase family protein
8	AVESA.00003a.r1.1CG01220540	-5.863	0.021	chr2C	34176083	34176226	-	predicted_gene	Calcium-dependent phosphotesterase superfamily protein

**Wnioski:**

1. Transkrypty zidentyfikowane w każdym z trzech rozpatrywanych modeli przyrównano do siebie. Spośród 52 transkryptów i odpowiadających im białek zidentyfikowanych w modelu pierwszym tylko dwa pojawiły się w wynikach każdej analizy. Pierwszym z nich był AVESA.00003a.r1.4C o aktywności kinazy, którego ekspresja obniżyła się 6 krotnie pod wpływem porażenia *P. coronata*, drugim AVESA.00003a.r1.5D kodujący czynnik transkrypcyjny WRKY, dla którego stwierdzono 3,5-krotny spadek ekspresji.
2. Siedem transkryptów/białek zostało uznanych za znaczące nie tylko w analizie pierwszej, ale również w analizie drugiej.
3. Najlepsze rezultaty uzyskano stosując model trzeci, który różnicował badane próby na dwie pule, z genem *Pc39* lub z jego recesywnym allelem. W tym modelu zidentyfikowano transkrypty zlokalizowane głównie na niewielkim obszarze chromosomów, których lokalizacja odpowiada położeniu locus genu *Pc39*.



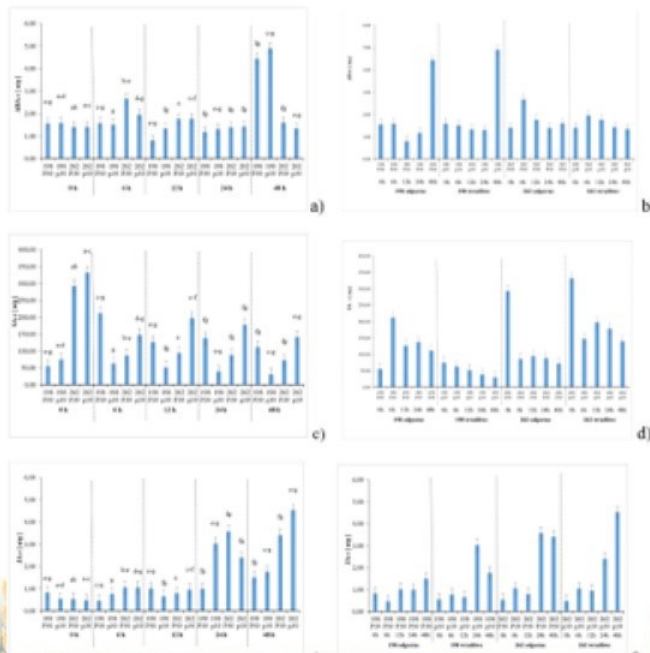
Temat badawczy 4

Ocena zawartości związków o potencjale antyoksydacyjnym w liniach bliskoizogenicznych *Pc39/pc39*

Wyniki

Materiał roślinny pochodził z testu żywiciel – patogen, założonego na siewkach w roku 2022. Celem tego zdania było dokonanie oceny zmian w zawartości związków fenolowych i związków o aktywności antyoksydacyjnej w liniach bliskoizogenicznych *Pc39/pc39* w różnym czasie od infekcji *P. coronata*. Określono całkowitą zawartość wolnych związków fenolowych w liściach roślin oraz związków fenolowych związanych ze ścianą komórkową. Oznaczono również całkowitą zawartość antyoksydantów, białka, aktywność enzymów antyoksydacyjnych: dysmutazy anionorodnika ponadtlenkowego (SOD), katalazy (KAT) i peroksydazy (POD), a także poziom hormonów: kwasu abscysynowego, salicylowego i jasmonowego.

Tab. 6. Zawartość hormonów: kwasów abscysynowego (ABA) [ng/g] (a,b), salicylowego (SA) [ng/g] (c,d) i jasmonowego (JA) [ng/g] (e,f) w liściach owsa (*Avena sativa* L.) w zależności od linii (198 i 262), genu odporności (P39 i p39) oraz czasu po porażeniu (0h, 6h, 12h, 24h i 48h). Wartości średnie, n = 4n ± SE.



Wnioski:

1. Zróżnicowaną zawartość wszystkich badanych parametrów odnotowano w liściach siewek owsa linii 262 i 198. Różnice te były często wyższe aniżeli pomiędzy liniami z genem *Pc39* lub *pc39*.
2. Wyższe zawartości wolnych związków fenolowych i związanych ze ścianą fenoli obserwowano dla genu *Pc39* u obydwu badanych linii po 6 i 12 godzinach od inokulacji *P. coronata*. Natomiast po 48 godzinach infekcji wyższą zawartość fenoli obserwowano dla allelu recesywnego genu *p39*.
3. Aktywność antyoksydacyjna liści owsa po 6 godzinach od inokulacji *P. coronata* była istotnie wyższa u linii z genem *p39* w porównaniu do *Pc39*.
4. Wszystkie linie owsa charakteryzowały się wzrostem aktywności katalazy, peroksydazy i dysmutazy ponadtlenkowej porównując moment porażenia i stan po 48 godzinach. W przypadku peroksydazy ten wzrost był istotnie wyższy w liniach z genem *Pc39*.
5. W obu liniach z genem *Pc39* w 6 godzinie po porażeniu zauważyć można było średnio dwukrotny wzrost zawartości kwasu abscysynowego.
6. Analizując poziom kwasu salicylowego zaobserwowano, że zarówno w obecności genu *Pc39*, jak i *pc39* następował stopniowy wzrost zawartości SA w trakcie trwania eksperymentu i w 48h od porażenia zawartość tego hormonu była ponad dwukrotnie wyższa niż przed porażeniem obu linii.
7. Porównując zmiany w poziomie kwasu jasmonowego zachodzące w czasie w liniach z genem *Pc39* zaobserwowano największy wzrost (5 x) zawartości hormonu po 48h od inokulacji, z kolei w liniach z genem *pc39* po 24 godzinach wzrost jest niemal 10-krotny.



Lp.	miernik	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana	stopień realizacji zadania [%]
1	2	3	4	5
<b>temat badawczy 1</b>				
1.1	Liczba polskich odmian i linii hodowlanych <i>A. sativa</i> poddanych kompleksowej ocenie odporności na choroby	500	500	100
<b>temat badawczy 2</b>				
2.1	Liczba linii F <sub>3</sub> , dla których zostanie określony fenotyp <i>Pc51/pc51</i>	300	300	100
2.2	Liczba linii F <sub>2</sub> , dla których zostanie określony fenotyp <i>Pc101/pc101</i>	300	300	100
2.3	Liczba sekwencji sprzężonych z genem <i>Pc51</i> dla których opracowane zostaną startery specyficzne	4	4	100
2.4	Liczba sekwencji sprzężonych z genem <i>Pc101</i> dla których opracowane zostaną startery specyficzne	4	4	100
<b>temat badawczy 3</b>				
3.1	Liczba analiz mających na celu identyfikację DEG	1	1	100
<b>temat badawczy 4</b>				
4.1	Liczba próbek dla których zostaną przeprowadzone analizy biochemiczne	40	40	100
4.2	Liczba parametrów ocenianych dla każdej analizowanej próby	10	10	100
			<b>ŚREDNIA</b>	100
			<b>% REALIZACJI ZADANIA</b>	100

#### **DONIESIENIE KONFERENCYJNE**

Edyta Paczos-Grzeda\*, Sylwia Sowa, Joanna Lech, Magdalena Tomczyńska, Aneta Koroluk 2023. Identification and chromosomal localisation of SNP markers for the oat crown rust resistance gene *Pc59*, 18th EWAC The European Cereals Genetics Co-operative Conference, 6 November 2023, Wernigerode, Germany, p.13.

