

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.edu.pl)

dr inż. Sylwia Sowa

dr 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 Warchoł

Instytut Fizjologii Roślin, PAN, Kraków



Lp.	Cele projektu:	Czy cel został zrealizowany
1	Kompleksowa ocena odporności na choroby grzybowe odmian i linii <i>A. sativa</i> , genotypów <i>A. sterilis</i> i <i>A. byzantina</i> .	TAK
2	Opracowanie markerów dla genu odporności na rdzę koronową <i>Pc39</i> w oparciu o analizy transkryptomu.	TAK
3	Analiza porównawcza transkryptomu linii bliskoizogenicznych <i>Pc60/pc60</i> po infekcji <i>P. coronata</i> .	TAK
4	Piramidyzacja efektywnych genów odporności.	TAK
5	Ocena zwartości związków o potencjale antyoksydacyjnym w liniach bliskoizogenicznych <i>Pc60/pc60</i> .	TAK



Materiał i metody

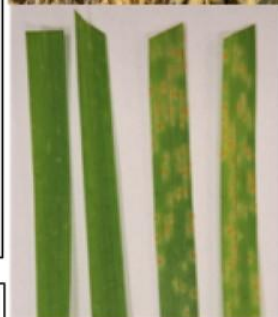
Temat badawczy 1

Materiał:

- 173 genotypy *A. byzantina* i 27 - *A. sterilis* sprowadzonych z National Small Grain Collection (USDA, Aberdeen), Crop Research Institute (Praga, Czechy) oraz John Innes Centre (Norwich, Wielka Brytania).
- Scharakteryzowane pod względem wirulencji izolaty *Puccinia coronata*, *Puccinia graminis*, *Blumeria graminis*

Metody:

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



Temat badawczy 3

Materiał:

- Linie bliskoizogeniczne z genem *Pc60/pc60*

Metody:

- Identyfikacja DEG (differentially expressed genes)

Temat badawczy 4

Materiał:

- Mieszance jedno-, dwu- i trójgenowe dla genów odporności *Pc*, *Pg* i *Pm*

Metody:

- Test żywicieli-patogen
- Krzyżowanie, rozmnożenie

Temat badawczy 2

Materiał:

- Linie bliskoizogeniczne z genem *Pc39/pc39*
- Populacja 310 F8 (Celer x STH9210)
- Populacje mieszańcowe z genem *Pc91*

Metody:

- Test żywicieli-patogen
- Analiza poziomu ekspresji 5 wytypowanych DEG (differentially expressed genes)

Temat badawczy 5

Materiał:

- Linie bliskoizogeniczne z genem *Pc60/pc60* po teście żywicieli-patogen

Metody:

- Analiza zawartości związków fenolowych, związków o aktywności antyoksydacyjnej i hormonów.

Kompleksowa ocena odporności na choroby grzybowe genotypów *A. sterilis* i *A. byzantina*

A. sterilis i *A. byzantina*

- Kompleksowa ocena odporności genotypów *A. sterilis* i *A. byzantina* na choroby grzybowe wywoływane przez *P. coronata*, *P. graminis* oraz *B. graminis*

Wyniki

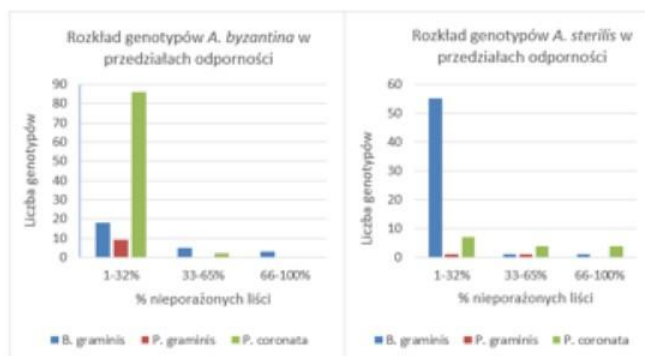
Na podstawie profilowania wirulencji wyselekcjonowano 18 izolatów (12 – *Pc*, 3 – *Pg* i 3 – *Bg*) o reprezentatywnych spektrach (tab.1), które wykorzystano do charakterystyki odporności 173 genotypów *Avena byzantina* oraz 27 *A. sterilis* sprowadzonych z różnych banków genów.

Wnioski

- Stwierdzono, że większość genotypów *A. byzantina* była wysoce podatna na rdzę koronową, mączniaka prawdziwego i rdzę żdźbłową.
- Większą odpornością na testowane patogeny charakteryzowały się genotypy *A. sterilis*, aniżeli *A. byzantina* (ryc.1, ryc. 2).
- W ponad połowie testowanych genotypów *A. byzantina* i w niemal wszystkich *A. sterilis* stwierdzono niejednorodność reakcji (tab. 2)
- Formami o najsilniejszej odporności na rdzę koronową były genotypy *A. sterilis* PI657481 i PI657513.

Tab. 1. Izolaty *Puccinia coronata* f. sp. *avenae*, *Puccinia graminis* f. sp. *avenae* i *Blumeria graminis* 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</i> _58 St18/5
		2. <i>Pc</i> _94(63)_241/18
		3. <i>Pc</i> _230
		4. <i>Pc</i> _257
		5. <i>Pc</i> _Cz.09/22 2/5
		6. <i>Pc</i> _56
		7. <i>Pc</i> _241/18
		8. <i>Pc</i> _Chorwacja 22 2/6
		9. <i>Pc</i> _233
		10. <i>Pc</i> _Pol.23 9/10
		11. <i>Pc</i> _Pol.23 13/15
<i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>avenae</i>	<i>Pg</i>	1. <i>Pg</i> _Fr.2/23
		2. <i>Pg</i> _Cz.23.3
		3. <i>Pg</i> _Zalew.24.1
<i>Blumeria graminis</i> f. sp. <i>avenae</i>	<i>Bg</i>	1. <i>Pm</i> _K.18.2
		2. <i>Pm</i> _Strz.23.3
		3. <i>Pm</i> _Spain.21.1



Ryc. 1. Liczba genotypów charakteryzujących się określoną procentową odpornością roślin w obrębie genotypu na testowane izolaty *Puccinia coronata*, *Blumeria graminis* i *Puccinia graminis*

Tab. 2. Odporność genotypu 03C0702205 *A. byzantina* na rdzę koronową jako przykład niejednorodnej reakcji odpornościowej (res – reakcja odpornościowa, sus – porażenie)

<i>Avena byzantina</i> 03C0702205 'Cypress'	Isolate Pc1	Isolate Pc2	Isolate Pc3	Isolate Pc4	Isolate Pc5	Isolate Pc6	Isolate Pc7	Isolate Pc8	Isolate Pc9	Isolate Pc10	Isolate Pc11
Plant No.1	sus	sus	sus	sus	sus	res	res	sus	sus	sus	res
Plant No.2	res	res	sus	res	res	res	res	sus	sus	sus	res
Plant No.3	sus	res	sus	res	res	sus	sus	res	sus	sus	res
Plant No.4	res	res	sus	res	res	res	res	res	sus	sus	res
Plant No.5	res	res	sus	sus	sus	sus	sus	sus	sus	sus	sus
Plant No.6	res	res	sus	res	res	res	res	res	sus	sus	res
Plant No.7	res	res	sus	res	res	sus	sus	sus	sus	sus	res
Plant No.8	res	res	sus	sus	res	sus	sus	sus	sus	sus	res
Plant No.9	res	sus	sus	res	res	res	res	res	sus	sus	res
Plant No.10	res	res	sus	res	res	res	res	res	sus	sus	res



Ryc. 2. Procentowy rozkład genotypów pod względem liczby izolatów *Puccinia coronata*, na które wykazują odporność.

Temat badawczy 2

Opracowanie markerów dla genu odporności na rdzę koronową *Pc39* w oparciu o analizy transkryptomu

- Analiza poziomu ekspresji transkryptów zidentyfikowanych jako DEG.
- Wytypowanie wśród DEG sekwencji możliwych do przekształcenia w markery dla genu *Pc39*.

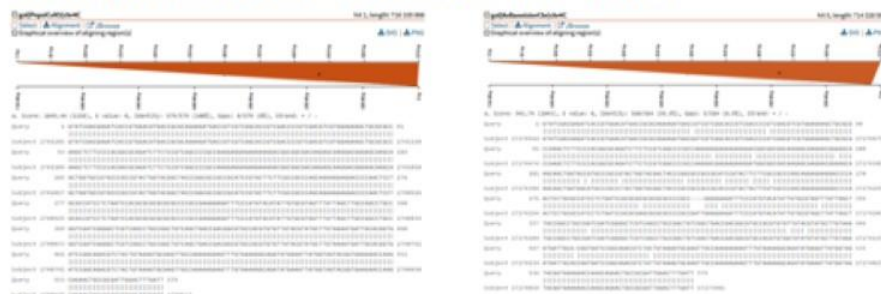
Wyniki

Zadaniem w ramach tematu 2 było określenie metodą qPCR poziomu transkrypcji genów zidentyfikowanych w analizie RNAseq jako ulegające zróżnicowanej ekspresji (DEG) w odpowiedzi na porażenie *Puccinia coronata* linii bliskoizogenicznych z genem *Pc39* oraz jego recesywnym allelem *pc39* (tab.3)

Tab. 3. Geny wybrane na podstawie analizy DEG przeprowadzonej w oparciu o wyniki RNAseq linii bliskoizogenicznych *Pc39/pc39*.

L.p.	Oznaczenie genu w genomie Pepsico	Oznaczenie genu w genomie odmiany Bingo
1	AVESA.00001b.r3.4Cg0000059	AVESA.00003a.r1.6AG04873530
2	AVESA.00001b.r3.4Cg0000039	AVESA.00003a.r1.4CG03001360
3	AVESA.00001b.r3.6Ag0003359	AVESA.00003a.r1.6AG04875050
4	AVESA.00001b.r3.6Ag0003205	AVESA.00003a.r1.4CG03000670
5	AVESA.00001b.r3.6Ag0003366	AVESA.00003a.r1.6AG04874720

Sekwencje tych genów zostały pobrane z danych RNAseq oraz z bazy danych GrainGenes. Dokonano porównania sekwencji pochodzących z różnych odmian i różnych genomów w celu identyfikacji sekwencji pochodzących z konkretnej lokalizacji chromosomowej (ryc.3).

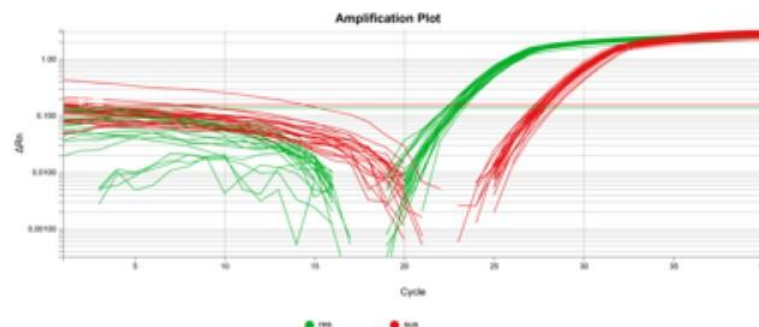


Ryc. 3. Porównanie sekwencji fragmentu genu AVESA.00001b.r3.6Ag0003205 z odmiany *A. sativa* Bingo do genomu *A. sativa* Pepsico oraz Bannister.

Na podstawie wyników analizy qPCR spośród testowanych DEG wybrano jeden gen o potencjalnej wartości markerowej, a mianowicie AVESA.00001b.r3.4Cg0000059 ulegający zróżnicowanej ekspresji po porażeniu grzybem *Puccinia coronata*. Przeprowadzono sekwencjonowanie produktów PCR uzyskanych z udziałem starterów uniwersalnych dla *Pc39* i *pc39*. Uzyskane sekwencje zblastowano z genomami owsa dostępnymi w bazie danych GrainGenes w celu identyfikacji unikalnych polimorfizmów typu SNP, które wykorzystano do projektowania specyficznych starterów. Na podstawie wyników sekwencjonowania zaprojektowano 20 par starterów amplifikujących różne rejony genu i celujące w konkretne SNP. Najlepszą parą o potencjalnej wartości markerowej jest 059_F1A+059_R3T (ryc.4). Z udziałem wymienionej pary starterów uzyskiwany jest u form odpornych produkt o wielkości 400 pz.

Wnioski

- Śród wytypowanych DEG wybrano gen AVESA.00001b.r3.4Cg0000059, którego ekspresja oceniona w analizie RNAseq u form odpornych była podwyższona niezależnie od infekcji lub jej braku. Najprawdopodobniej wynika to z obecności dominującego allelu genu *Pc39*. W formach porażonych nie stwierdzono obecności transkryptu tego genu.
- Najlepszą parą starterów do identyfikacji markerów dla genu *Pc39* jest *Pc39_059_F1A+059_R3T*.



Ryc.4. Wykres amplifikacji real-time dla populacji 310 (Celer x STH9210) z parą starterów *Pc39_059_F1A+Pc39_059_R3T*. Produkt wielkości 400 bp u odpornych jest amplifikowany w dużej większej ilości. Zielony – odporne, czerwony – wrażliwe.

Temat badawczy 2

Opracowanie markerów dla genu odporności na rdzę koronową *Pc39* w oparciu o analizy transkryptomu

- Adaptowanie markerów dla genu *Pc91*

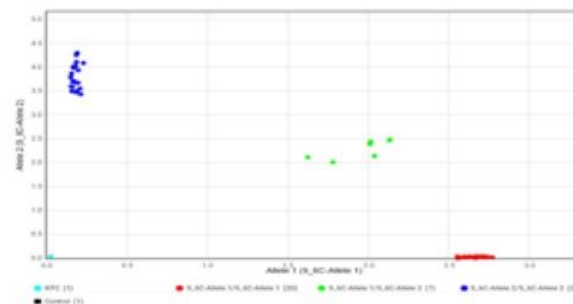
Wyniki i wnioski:

Kolejnym zadaniem w ramach tematu badawczego była próba adaptacji czterech markerów typu KASP dla genu *Pc91*: oPt-0350-KOM4c2, oPt-0350-KOM5c1, oPt-0350-KOM6c2 oraz KASP_GMI_ES03_c2277_336. W pierwszym etapie w teście fizjologicznym żywiciel-patogen z wyselekcjonowanymi izolatami *Puccinia coronata* nie przełamującymi odporności warunkowanej genem *Pc91* określono fenotypy linii F_2 , a na ich podstawie genotypy wybranych roślin. Zaprojektowane na bazie markerów KASP zestawy TaqMan przetestowano na 48 roślinach populacji 561 (Bingo $\times$ HiFi (Pc91) oraz 48 roślinach z populacji 682 (Pc91 $\times$ Kasztan). Najlepsze wyniki uzyskano dla oPt-0350-KOM4c2, oPt-0350-KOM5c1, oPt-0350-KOM6c2 (ryc. 5,6), najbliższe dla KASP_GMI_ES03_c2277_336 (tab.4).

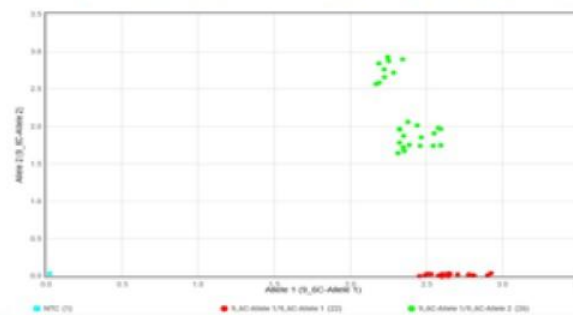
- Zaprojektowane zestawy TaqMan mogą być wykorzystywane do identyfikacji obecności poszczególnych alleli genu *Pc91* w owsie, niemniej jednak podobnie jak oryginalne KASP w przypadku linii referencyjnej z genem *Pc91* rozpoznają one układ heterozygotyczny. Dlatego też użyteczność markera będzie zależała od źródła genu *Pc91* w testowanych materiałach.

Tab. 4. Wyniki testów fenotypowych i testów molekularnych z wykorzystaniem zestawów sond i starterów TaqMan w populacji mieszańcowej 561 (Bingo $\times$ HiFi), ich formach rodzicielskich i odmianach posiadających gen *Pc91*. Wytłuszczono genotypy poprawnie zidentyfikowane metodą TaqMan.

Lp.	Genotyp	257/233/241	Conf	Allel 1	Allel 2	9_oPt-0350-KOM6c2	conf	Allel 1	Allel 2	8_oPt-0350-KOM5c1	conf	Allel 1	Allel 2	3_GMI_ES03_c2277_336	Conf	Allel 1	Allel 2	6_oPt-0350-KOM4c2
1	561/4	res	0,99	0,21	3,43	HOMO 2	0,99	0,64	3,55	HOMO 2	0,99	1,97	0,10	HOMO 1	0,99	1,96	0,01	HOMO 1
2	561/9	res	0,99	0,19	3,49	HOMO 2	0,99	0,67	3,81	HOMO 2	0,99	2,04	0,12	HOMO 1	0,99	2,05	0,01	HOMO 1
3	561/13	res	0,99	0,16	3,08	HOMO 2	0,99	0,64	3,74	HOMO 2	0,99	1,94	0,10	HOMO 1	0,99	1,96	0,01	HOMO 1
4	561/15	res	0,98	1,87	3,16	HET	0,99	2,56	3,25	HET	0,98	1,58	1,78	HET	0,97	1,69	1,47	HET
5	561/19	res	0,99	0,18	4,03	HOMO 2	0,99	0,63	3,83	HOMO 2	0,99	2,08	0,10	HOMO 1	0,99	2,13	0,01	HOMO 1
6	561/20	res	0,99	0,19	4,11	HOMO 2	0,99	0,63	3,81	HOMO 2	0,99	2,07	0,11	HOMO 1	0,99	2,16	0,02	HOMO 1
7	561/24	res	0,89	1,33	3,06	HET	0,95	2,13	3,53	HET	0,92	1,71	1,48	HET	0,82	1,76	1,13	HET
8	561/6	s/r/r	0,99	2,52	0,01	HOMO 1	0,99	3,22	0,67	HOMO 1	0,99	0,27	3,33	HOMO 2	0,99	0,03	3,25	HOMO 2
9	561/10	s/s/r	0,99	2,55	-0,01	HOMO 1	0,99	3,26	0,71	HOMO 1	0,99	0,27	3,33	HOMO 2	0,99	0,03	3,41	HOMO 2
10	561/12	sus	0,99	2,66	0,00	HOMO 1	0,99	3,22	0,68	HOMO 1	0,99	0,29	3,39	HOMO 2	0,99	0,03	3,45	HOMO 2
11	561/16	s/h/r	0,99	2,41	-0,01	HOMO 1	0,99	3,17	0,78	HOMO 1	0,99	0,28	3,17	HOMO 2	0,99	0,03	3,23	HOMO 2
12	561/27	s/s/h	0,99	2,56	0,00	HOMO 1	0,99	3,11	0,59	HOMO 1	0,99	0,29	3,04	HOMO 2	0,99	0,04	2,97	HOMO 2
13	561/37	s/h/r	0,99	2,61	0,01	HOMO 1	0,99	3,17	0,58	HOMO 1	0,99	0,30	3,29	HOMO 2	0,99	0,05	2,87	HOMO 2
14	561/38	s/h/r	0,99	2,48	0,01	HOMO 1	0,99	3,22	0,81	HOMO 1	0,99	0,28	3,36	HOMO 2	0,99	0,04	3,21	HOMO 2
15	561/5	h/r/r	0,99	1,78	2,01	HET	0,99	2,82	3,12	HET	0,99	1,41	2,40	HET	0,99	1,48	2,00	HET
16	561/8	het	0,98	2,44	2,15	HET	0,97	3,05	2,45	HET	0,95	1,17	2,69	HET	0,97	1,23	2,39	HET
17	561/23	h/r/r	0,99	0,13	3,20	HOMO 2	0,99	0,60	3,64	HOMO 2	0,99	2,01	0,11	HOMO 1	0,99	1,96	0,01	HOMO 1
18	561/35	h/h/r	0,99	1,62	2,11	HET	0,99	2,73	3,04	HET	0,99	1,45	2,22	HET	0,99	1,57	1,87	HET
19	561/46	h/r/r	0,81	2,77	1,27	HOMO 1	0,69	3,24	1,85	HOMO 1	0,85	0,88	3,13	HOMO 2	0,67	0,80	2,74	HOMO 2
20	Bingo	sus	0,99	2,91	-0,01	HOMO 1	0,99	3,34	0,59	HOMO 1	0,99	0,29	3,73	HOMO 2	0,99	0,02	3,49	HOMO 2
21	HiFi USA	res	0,99	0,16	3,61	HOMO 2	0,99	0,71	4,02	HOMO 2	0,99	2,22	0,13	HOMO 1	0,99	2,18	0,02	HOMO 1
22	Stainless	res	0,99	0,15	3,29	HOMO 2	0,99	0,61	3,60	HOMO 2	0,99	1,97	0,11	HOMO 1	0,99	1,92	0,01	HOMO 1
23	682a/9	res	0,99	2,28	2,72	HET	0,99	2,88	2,93	HET	0,99	0,29	3,33	HOMO 2	0,99	1,48	1,74	HET
24	682a/18	res	0,99	2,22	2,66	HET	0,99	2,86	3,05	HET	0,99	2,18	0,10	HOMO 1	0,99	1,63	2,01	HET
25	682a/21	res	0,99	2,34	2,90	HET	0,99	2,87	3,09	HET	0,46	1,96	1,29	HET	0,99	1,62	2,05	HET



Ryc.5. Rozkład alleli genu *Pc91* identyfikowanych sondą TaqMan 9_oPt-0350-KOM6c2 w populacji 561 (Bingo $\times$ HiFi).



Ryc.6. Rozkład alleli genu *Pc91* identyfikowanych sondą TaqMan 9_oPt-0350-KOM6c2 w populacji 682 (Pc91 $\times$ Kasztan).

1. Odczyty RNA-seq po filtracji cechowały się bardzo wysoką jakością (Q20=98%, Q30=94%), co zapewniło wiarygodność dalszych analiz transkryptomicznych.
2. Profil mapowania (73% odczytów w eksonach) potwierdził poprawne wzbogacenie bibliotek w mRNA i pozwolił na precyzyjne oszacowanie poziomów ekspresji.
3. Rekonstrukcja transkryptomu ujawniła ponad 117 tys. nowych transkryptów, z czego znaczna część związana była z regulacją odpowiedzi odpornościowej i metabolizmem wtórnym.
4. Wysoka korelacja powtórzeń i rozkład analizy PCA potwierdziły, że różnice ekspresji między Pc60(R) i pc60(S) są biologicznie istotne, a nie techniczne.
5. Zidentyfikowano ponad 194 tys. genów o zróżnicowanej ekspresji w różnych rozpatrywanych modelach badawczych oraz zestaw genów różnicujących linie Pc60(S)/pc60(R), który był elementem dalszej analizy.
6. Wśród genów o zróżnicowanej ekspresji (ulegających ekspresji w Pc60(R) lub pc60(S)) najwięcej zmapowano do chromosomu 6D, przy czym znacząca ilość (766 genów), to geny o zwiększonej ekspresji w linii pc60(S) wrażliwej na porażenie *P. coronata*
7. Analiza funkcjonalna ujawniła wzbogacenie kategorii odpornościowych, a wytypowane DEG, w tym silnie indukowany gen AVESA_00010b_r2_2DG0386480 z rodziny NLR (Nucleotide-binding leucine-rich repeat), są wartościowymi kandydatami markerowymi do dalszej walidacji qRT-PCR.

Temat badawczy 4

Piramidyzacja efektywnych genów odporności

- Piramidyzacja genów Pc w efekcie krzyżowań mieszańców wielogenowych
- Rozmnożenie w warunkach polowych mieszańców przeznaczonych do piramidyzacji genów

Wyniki

Wszystkie formy przeznaczone do krzyżowań poddano testom fizjologicznym mającym na celu identyfikację podwójnych homozygot dominujących dla genów odporności na rdzę koronową lub mączniaka prawdziwego. W teście wykorzystano wyselekcjonowane eksperymentalnie w latach poprzednich izolaty *P. coronata* oraz *B. graminis* o profilach wirulencji umożliwiającym identyfikację poszczególnych genów. Wytypowane w teście rośliny będące homozygotami dominującymi pod względem co najmniej dwóch genów odporności wysiano na polkach Gospodarstwa Doświadczalnego UP w Lublinie, w Czesławicach i przeznaczono od krzyżowań (tab.6).

Rozmnożeniu w warunkach polowych poddano wybrane mieszańce (tab.5) posiadające potencjalnie co najmniej dwa geny odporności na choroby grzybowe uzyskane w latach poprzednich w celu uzyskania materiałów przeznaczonych do testowania, a następnie do krzyżowań w roku 2026.

Tab. 5. Zestawienie kombinacji mieszańcowych poddawanych rozmnożeniu w celu uzyskania podwójnych homozygot pod względem genów odporności na różne choroby grzybowe.

Lp.	Nr kombinacji	Forma matczna	Forma ojcowska	Rok uzyskania pok. F ₀	Pokolenie	Ziarniak do siewu	Zebrań roślin	Piramidyzowane geny
1	1575	Pc50U	Jukon	2024	F ₁	60	35	Pc50U/Pm7
2	1576a	Pc50U	Pc60	2024	F ₁	60	44	Pc50U/Pc60
3	1577	Pc60	Pc50U	2024	F ₁	60	46	Pc50U/Pc60
4	1580	Pc50K	Pc60	2024	F ₁	60	49	Pc50K/Pc60
5	1583	Pc50K	Pm4	2024	F ₁	60	44	Pc50K/Pm4
6	1598	Canyon	Pc48K	2024	F ₁	60	46	Pm7/Pc48K
7	1602	Jukon	Pc101	2024	F ₁	60	39	Pm7/Pc101
8	1612	Pc101	Pm4	2024	F ₁	60	42	Pm4/Pc101
9	1584	Pc50K	Pm7	2024	F ₁	60	40	Pc50K/Pm7
10	478	Pc50U	HiFi	2014	F ₁	60	54	Pc50U/Pc91

Tab. 6. Zestawienie kombinacji mieszańcowych pokolenia F₂ poddawanych testowaniu w celu identyfikacji podwójnych homozygot dla genów odporności na *P. coronata* i *B. graminis*.

Lp.	Nr kombinacji	Forma matczna	Forma ojcowska	Piramidyzowane geny		Liczba testowanych linii	Liczba homozygot dominujących dla genu pierwszego	Liczba homozygot dominujących dla genu drugiego	Liczba podwójnych homozygot dominujących	Liczba linii przeznaczonych do krzyżowań
				Gen pierwszy	Gen drugi					
1	1004	Pc60	937_Celer	Pc60	Pc39	24	5	7	1	1
2	1135a	Pc50U	937_Celer	Pc50	Pc39	24	6	7	1	1
3	1565	Pc60	Pm4	Pc60	Pm4	24	9	4	1	1
4	1564	Pc60	Jukon	Pc60	Pm7	24	7	5	1	1
5	1399	Kasztan x Pc68	Celer x Pc60	Pc68	Pc60	24	6	9	3	3

Wnioski:

- Brak izolatów o odmiennych profilach wirulencji uniemożliwia identyfikację w teście fizjologicznym wszystkich typów mieszańców, ograniczając ilość kombinacji możliwych do zidentyfikowania. Obecność słabszych genów jest maskowana przez geny mocniejsze.
- Brak dobrych markerów molekularnych dla genów odporności w owsie wynikająca ze złożoności genomu umożliwia jednoznaczny identyfikację podwójnych homozygot genów R.
- Łączenie testu fizjologicznego z molekularnym byłoby rozwiązaniem, ale jest nie tylko prac- i czasochłonne, ale również kosztowne.
- Niska efektywność zawiązywania ziarniaków jest przyczyną konieczności wykonania dużej liczby krzyżowań w celu uzyskania pożądanych mieszańców.
- Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że nagromadzenie genów odporności wpływa niekorzystnie na efektywność krzyżowań.
- Należałoby sprawdzić, czy obniżenie efektywności krzyżowań jest wynikiem nagromadzenia wielu genów odpornością czy też obecności konkretnych genów o niekorzystnym wpływie na efektywność zapylania.

Temat badawczy 5

Ocena zawartości związków o potencjale antyoksydacyjnym w liniach bliskoizogenicznych *Pc60/pc60*

- Dokonanie oceny zawartości związków fenolowych i związków o aktywności antyoksydacyjnej w liniach bliskoizogenicznych *Pc60/pc60*

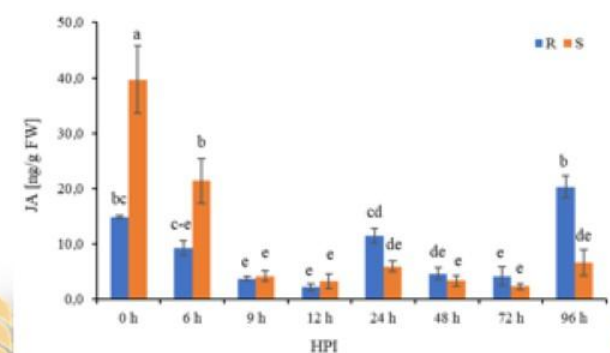
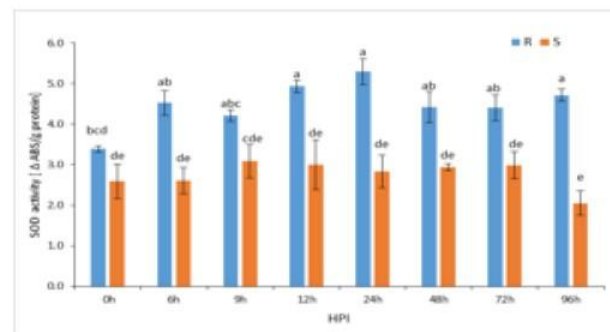
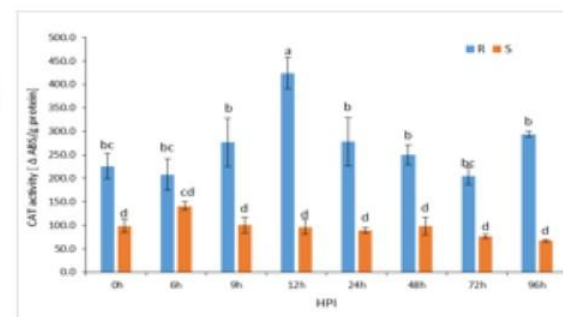
Wyniki

Materiał roślinny pochodził z testu żywiciel – patogen, założonego na siewkach w roku 2024. Celem tego zdania było dokonanie oceny zmian w zawartości związków fenolowych i związków o aktywności antyoksydacyjnej w liniach bliskoizogenicznych *Pc60/pc60* 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 nadtlenkowego (SOD), katalazy (CAT) i peroksydazy (POD), a także poziom hormonów: kwasu abscysynowego (ABA), salicylowego (SA) i jasmonowego (JA).

Wnioski:

- Obserwowany wzrost zawartości JA może zapewniać wczesną, niespecyficzną obronę, wpływając pośrednio na interakcję z SA. Wczesny, wysoki poziom JA w roślinach podatnych może odzwierciedlać nieswoistość, a nawet dezadaptacyjną odpowiedź, podczas gdy opóźniony, utrzymujący się wzrost w roślinach odpornych jest częścią skoordynowanej strategii obronnej (ryc. 10).
- ABA reguluje stres i potencjalnie tłumii obronę w późniejszych okresach, zaś SA ma kluczowe znaczenie dla swoistej odporności – szczególnie w liniach niosących główny gen odporności *Pc39*.
- Wyższa aktywność SOD w liniach odpornych umożliwia skuteczną detoksykację ROS, przyczyniając się do silniejszej, bardziej skoordynowanej obrony przed rdzą koronową (ryc.9). Mechanizm ten jest cechą charakterystyczną skutecznej odporności zbóż na rdze.
- Po inokulacji rośliny odporne utrzymują lub zwiększają aktywność POD, wzmacniając mechanizmy obronne, podczas gdy rośliny podatne wykazują przejściową odpowiedź, która nie zapobiega postępowi choroby.
- Po zakażeniu rośliny odporne szybko zwiększają aktywność CAT (ryc.8), aby przeciwdziałać nadmiernej akumulacji ROS wywołanej rozpoznaniem patogenu, podczas gdy rośliny podatne zazwyczaj nie zwiększają znacząco aktywności CAT po zakażeniu, co skutkuje słabą detoksykacją ROS, większymi uszkodzeniami komórek i większą podatnością na rozprzestrzenianie się patogenów.
- Obserwowana u roślin odpornych podwyższona aktywność katalazy (CAT) jest związana z odpornością zależną od genów R.

Ryc. 8.9.10. Aktywność katalazy (CAT), dysmutazy nadtlenkowej (SOD) oraz zawartość kwasu jasmonowego (JA) w liściach owsa (*Avena sativa* L.) w liniach NIL *Pc60/pc60* w zależności od form (R-odporne i S-wrażliwe) oraz czasu po porażeniu.



Prezentacja wyników:

1. Monogram 2025 - Cereals and Grasses Research Network, 7-10.04.25, Aberystwyth, Wielka Brytania. Chromosomal location oat crown rust resistance gene *Pc101* disease resistance. Edyta Paczos-Grzeda, Sylwia Sowa, Joanna Lech, Tim Langdon
2. 8th Conference on Cereal Biotechnology and Breeding, 11-13.11.2025r. Budapeszt, Węgry. The crown rust resistance gene *Pc51* in oat has been mapped to chromosome 1D. Edyta Paczos-Grzeda, Sylwia Sowa, Joanna Lech, Aneta Koroluk

Lp.	miernik	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana	stopień realizacji zadania [%]
1	2	3	4	5
temat badawczy 1				
1.1	Liczba genotypów <i>A. sterilis</i> i <i>A. byzantina</i> poddanych kompleksowej ocenie odporności na choroby	200	200	100
temat badawczy 2				
2.1	Liczba transkryptów, dla których zostanie określony poziom ekspresji	5	5	100
2.2	Liczba DEG konwertowanych na markery	1	1	100
2.3	Liczba testowanych markerów dla genu <i>Pc91</i>	4	4	100
temat badawczy 3				
3.1	Liczba analiz mających na celu identyfikację DEG	1	1	100
temat badawczy 4				
4.1	Liczba kombinacji mieszańcowych poddanych testowaniu pod kątem obecności dwóch genów odporności w formie homozygotycznej	5	5	100
4.2	Liczba kombinacji mieszańcowych poddanych rozmnożeniu, przeznaczonych do piramidyzacji genów	10	10	100
temat badawczy 5				
5.1	Liczba próbek dla których zostaną przeprowadzone analizy biochemiczne	36	36	100
5.2	Liczba parametrów ocenionych dla każdej analizowanej próby	9	9	100
ŚREDNIA				100
% REALIZACJI ZADANIA				100