

STRESZCZENIE

z realizacji zadania na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w 2016 roku

1. Tytuł zadania: **Efektywność piramidowania genów odporności na mączniaka prawdziwego (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*) i rdzę brunatną (*Puccinia triticina*) w pszenicy ozimej**

2. **Kierownik zadania:** Aleksandra Pietrusińska, dr inż., Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy w Radzikowie, 05-870 Błonie, Krajowe Centrum Roślinnych Zasobów Genowych, Pracownia Gromadzenia i Oceny Roślin, tel. 22/ 733 45 07, 22/ 733 45 00, a.pietrusinska@ihar.edu.pl

3. **Cel tematów badawczych:**

3.1. **Temat badawczy 1 - Piramidowanie efektywnych genów odporności**

Cel tematu badawczego 1:

1. Przeprowadzenie krzyżowań zbieżnych (ze źródłem odporności) oraz wstecznych (z rodzicem wypierającym).
2. Wykonanie selekcji fenotypowej oraz molekularnej materiału roślinnego pod kątem obecności wprowadzonych genów odporności.
3. Wyznaczenie polimorficznych markerów DArT, które będą wykorzystane do mapowania genu *Lr55*.

Materiały i metody

Materiał roślinny

Materiał roślinny stanowiły odmiany pszenicy ozimej: Bogatka, Nadobna, Lexus, Meteor oraz linia RAH979. Jako źródła odporności na mączniaka prawdziwego wykorzystano dwie linie pszeniczne, linia *Pm21* oraz linia *Pm37*. Ponadto w badaniach wykorzystano trzy źródła odporności na rdzę brunatną, linia *Lr41*, linia *Lr47* oraz linia *Lr55*. W 2016 roku selekcja fenotypowa oraz molekularna przeprowadzona została łącznie na 13 populacji mieszańcowych. Natomiast populacja nr 14, nie była analizowana, ponieważ w 2015 roku nie wyselekcjonowano żadnej rośliny. W bieżącym roku sprawozdawczym, z rezerw 2014 r. rozmnożono materiał roślinny dla populacji nr 14. Ponadto, materiał roślinny stanowiły również cztery populacje mapujące pokolenia F_2 : (*Lr55*×Bogatka), (*Lr55*×Nadobna), (*Lr55*×Kampana), (*Lr55*×Muszelka).

Doświadczenia fitopatologiczne

Selekcja fenotypowa pod kątem odporności na rdzę brunatną i mączniaka prawdziwego została przeprowadzona na 600 liniach. Natomiast ocena fenotypowa populacji mapujących pod kątem odporności na rdzę brunatną została przeprowadzona na 400 roślinach (plus linie/odmiany kontrolne). Do oceny reakcji odporności/podatności materiału roślinnego na zakażanie przez *Puccinia recondita* oraz *Blumeria graminis* wykorzystano jednozarodnikowe izolaty, odpowiednio Pt2902 (rdza brunatna) oraz Bgt Kadett 2 (mączniak prawdziwy). Wszystkie izolaty pochodzą z kolekcji Pracowni Gromadzenia i Oceny Roślin (KCRZG IHAR-PIB).

Izolacja DNA

Selekcja molekularna materiału roślinnego pod kątem wprowadzonych genów odporności była przeprowadzona na 300 roślinach. W zależności od etapu przeprowadzanej selekcji materiału roślinnego, a tym samym zależnie od zastosowanego markera molekularnego, w badaniach wykorzystano dwie różne metody izolacji DNA. Pierwsza, szybka metoda ekstrakcji DNA przeprowadzana była za pomocą buforu TPS (100 mM Tris-HCl pH 8.0; 1 M KCl, 10 mM EDTA) (Higgins i in., 2000) z drobnymi modyfikacjami. Otrzymany tą metodą ekstrakt, wykorzystany był w reakcji amplifikacji dla trzech markerów molekularnych: NAU/xibao15 (gen *Pm21*) oraz dla *Gwm60* i (*PSAPSR+PS10L+PS10L2*) (gen *Lr47*). W materiale roślinnym, dla którego potwierdzono molekularnie obecność dwóch genów odporności (*Pm21+Lr47*), wyizolowano DNA za pomocą drugiego protokołu opartego na wykorzystaniu bromku heksadecylotrimetyloaminowego (CTAB) opracowanego przez Murray'a i Thompsona (1980) i opisana przez Wagnera i współpracowników (1987) z drobnymi modyfikacjami. Wyizolowane tą metodą genomowe DNA, posłużyło jako matryca w reakcji amplifikacji w obecności markerów molekularnych: *Gdm35*, *Barc124*, *Gwm210*, *Gwm296*, *Gwm261* (gen *Lr41*) oraz *Gwm332*, *Wmc790*, *STSBE406627*, *STSBE445653* (gen *Pm37*). Ponadto, wykorzystując metodę CTAB, wyizolowano ok. 400 matryc z dwóch populacji mapujących (*Lr55*×Bogatka), (*Lr55*×Nadobna), a następnie dokonano pomiaru stężeń DNA (system typu NanoDrop).

Reakcja łańcuchowej polimeryzacji

Przebieg reakcji amplifikacji dla genu *Pm21*

W celu potwierdzenia obecności genu *Pm21* (6AL), w pracach selekcyjnych wykorzystano marker o nazwie *NAU/xibao15* (oczekiwany produkt 902 pz – par zasad). Objętość mieszaniny reakcyjnej w amplifikacji z udziałem markera *NAU/xibao15* wynosiła 8 µl, a w jej skład wchodziły następujące komponenty: 3 µl supernatantu po izolacji metodą TPS, 1 × bufor (MBI Fermentas, V. Graiciuno g. 8, 02241 Wilno, Litwa), 2,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTPs, 0,5 µM startera i 1 jednostka polimerazy Taq (MBI Fermentas). Powielanie fragmentów DNA przeprowadzono według następującego profilu reakcji PCR: 94°C/3 min. denaturacji wstępnej, 32 cykli składających się z: 94°C/30 sek., 55°C/30 sek., 72°C/2 min., etap elongacji trwał 5 min.

Przebieg reakcji amplifikacji dla genu *Lr47*

W celu określenia obecności genu *Lr47* (7AS), w selekcionowanym materiale roślinnym wykorzystano 2 markery molekularne: *Gwm60*, (*PSAPSR+PS10L+PS10L2*).

Objętość mieszaniny reakcyjnej amplifikacji z udziałem markera *Gwm60* wynosiła 8 µl, a w jej skład wchodziły następujące komponenty: 3 µl supernatantu po izolacji metodą TPS, 1 x bufor (MBI Fermentas), 2,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTPs, 0,5 µM startera i 1 jednostka polimerazy Taq (MBI Fermentas). Powielanie fragmentów DNA przeprowadzono według następującego profilu termicznego: 94°C/3min. denaturacji wstępnej, 10 cykli składających się z: 94°C/30 sek., 55°C/30 sek., 72°C/1 min., a także 30 cykli 90°C/30 sek., 55°C/30 sek., 72°C/1 min. Dla markera (*PSAPSR+PS10L+PS10L2*) mieszanina reakcyjna wynosiła 25 µl całkowitej objętości o następującym składzie komponentów: 3 µl supernatantu po izolacji metodą TPS, 1 × bufor (MBI Fermentas), 3 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTPs, 0,2 µM startera i 1,5 jednostka polimerazy Taq (MBI Fermentas). Reakcja amplifikacji typu „touchdown” przebiegała wg. następującego profilu termicznego: 94°C/3min. denaturacji wstępnej, (94°C/30 sek., 70-64°C/30 sek., 72°C/30 sek.), a także 35 cykli 94°C/30 sek., 63°C/30 sek., 72°C/30 sek., końcowe wydłużanie łańcucha DNA trwało 10 min.

Przebieg reakcji amplifikacji dla genu *Lr41*

W celu określenia występowania genu *Lr41*, wykorzystano 5 literaturowych loci mikrosatelitarnych: *Gdm35* (170 pz), *Barc124* (250 pz), *Gwm210* (182 pz), *Gwm296* (135 pz), *Gwm261* (160-200pz). Wszystkie reakcje zostały przeprowadzone w układzie objętości 8 µl w skład którego wchodziły następujące komponenty: 3 µl DNA, 1 × bufor (MBI Fermentas) 2,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTPs, 0,5 µM startera i 1 jednostka polimerazy Taq (MBI Fermentas). W zależności od temperatury przyklejania się starterów do matrycy zastosowano dwa profile termiczne reakcji PCR. Dla markerów *Barc124* oraz *Gdm35* warunki amplifikacji przebiegały według następującego programu: 94°C/2min. denaturacji wstępnej, 10 cykli składających się z: 94°C/30 sek., 55°C/30 sek., 72°C/1 min., a także 30 cykli 90°C/30 sek., 55°C/30 sek., 72°C/1 min. Dla markerów *Gwm296* oraz *Gwm261* profil reakcji PCR różnił się jedynie temperaturą hybrydyzacji, która wynosiła 60°C/30 sek. W ostatnim cyklu reakcji amplifikacji, etap elongacji został wydłużony do 5 min. Dla markera *Gwm210* powielanie fragmentów DNA przeprowadzono jednostopniowo według następującego profilu: 94°C/3 min. denaturacji wstępnej, 45 cykli składających się z profilu: 94°C/1 min., 60°C/1 min., 72°C/2 min., końcowe wydłużanie łańcucha DNA przedłużono do 10 min.

Temperatura pokrywy grzewczej w termocyklerze Mastercycler ep ustawiono na 105°C we wszystkich zastosowanych programach. W każdej parze starterów amplifikujących loci mikrosatelitarne jeden ze starterów na końcu 5' wyznakowany był jednym z trzech dostępnych barwników fluorescencyjnych ABI (FAM - niebieski, HEX - żółty lub TET - zielony).

Przebieg reakcji amplifikacji dla genu *Pm37*

W celu określenia występowania genu *Pm37* zostały wykorzystane 4 markery molekularne: *Gwm332* (192 pz), *Wmc790* (149 pz), *STSBE406627* (550 pz), *STSBE445653* (750 pz). Reakcje amplifikacji zostały przeprowadzone w układzie zawierającym w objętości 8 µl mieszaniny reakcyjnej następujące składniki: 3 µl DNA, 1 × bufor (MBI Fermentas), 2,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTPs, 0,5 µM startera i 1 jednostka polimerazy Taq (MBI Fermentas). Dla markerów *Gwm332* oraz *Wmc790* powielanie fragmentów DNA zostało przeprowadzone według następującego profilu termicznego: 94°C/3 min. denaturacji wstępnej, 45 cykli składających się z: 94°C/1 min., 60°C/1 min., 72°C/2 min., etap elongacji trwał 10 min. Dla markerów STS: *B3E406627* oraz *BE445653* warunki amplifikacji przebiegały według następującego programu: 94°C/2min. denaturacji wstępnej, 10 cykli składających się z: 94°C/30 sek., (58°C/30 sek. / 54°C/30 sek.), 72°C/1 min., a także 30 cykli 90°C/30 sek., (58°C/30 sek. / 54°C/30 sek.), 72°C/1 min. Temperatura pokrywy grzewczej w termocyklerze ustawiono na 105°C we wszystkich zastosowanych programach.

Przebieg reakcji amplifikacji dla genu *Lr55*

W celu wyselekcjonowania polimorficznych markerów DArT przeprowadzono reakcję trawienia enzymami restrykcyjnymi. W pierwszej kolejności dla 15 par starterów DArT (wPt6427_3, wPt8986_1, wPt5678_1, wPt5678_3, wPt6777_1, wPt6777_3, wPt5801_1, wPt5801_2, wPt6117_1, wPt6117_2, wPt6833_1, wPt6833_3, wPt2019_2, wPt5316_1, wPt5316_2) przeprowadzono reakcję amplifikacji dla warunków PCR-M13. Reakcje amplifikacji zostały przeprowadzone w układzie zawierającym w objętości 10 µl mieszaniny reakcyjnej następujące składniki: 3 µl DNA, 1 × bufor (MBI Fermentas), 2,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTPs, 5 pmol startera M13 (FAM, HEX, TET), 1 pmol for. primer, 5 pmol rev. primer i 1 U polimerazy Taq (MBI Fermentas). Dla wszystkich starterów powielanie fragmentów DNA zostało przeprowadzone według następującego profilu termicznego: 95°C/3 min. denaturacji wstępnej, 15 cykli składających się z: 94°C/30 sek., 65-51°C/30 sek., 72°C/1,20 min., 30 cykli 94°C/15 sek., 50°C/15 sek., 72°C/45 sek., końcowe wydłużanie łańcucha DNA przedłużono do 5 min (72°C/5 min.). Temperatura pokrywy grzewczej w termocyklerze ustawiono na 105°C.

Trawienie enzymami restrykcyjnymi

Inkubację preparatów DNA w obecności 15 enzymów restrykcyjnych (*Bam*HI, *Mbo*I, *Mse*I, *Alu*I, *Rsa*I, *Bsr*GI, *Hin*II, *Mbo*II, *Hae*III, *Eco*RI, *Xba*I, *Sac*I, *Pst*I, *Bsp*143I, *Bsp*MI) przeprowadzono w obecności specyficznych buforów w ściśle określonych warunkach termicznych, zalecanych wg. charakterystyki załączonej przez producenta. W skład każdej mieszaniny reakcyjnej wchodziły następujące komponenty: 10 µl mieszaniny reakcyjnej po reakcji amplifikacji, 18 µl dH₂O, 2 µl buforu oraz 1 U restryktazy. Całkowita objętość mieszaniny inkubowanej wynosiła 31 µl. Reakcja trawienia została przeprowadzona przy wykorzystaniu płytek – bloków 96-ścio dołkowych w termocyklerze Mastercycler ep.

Rozdział elektroforetyczny produktów amplifikacji PCR oraz trawienia restryktazami

Rozdział produktów amplifikacji PCR, odpowiednio dla genów: *Lr41*, *Lr47* (tylko *Gwm60*), oraz *Pm37* przeprowadzany był na sekwenatorze DNA ABI 377 XL na 4,75% denaturującym żelu poliakrylamidowym (Long Ranger Gel Solution, USA) w obecności brwników: HEX (żółty), FAM (niebieski), TET (zielony). Katalizatorem reakcji polimeryzacji jest N,N,N,N'-tetrametyloetylenodiamina (TEMED), a inicjatorem nadsiarczan amonu (APS). Rozdział elektroforetyczny prowadzony był w buforze 1 × TBE (0,1 M Tris, 90 mM kwas borowy, 9 mM EDTA). W zależności od wielkości oczekiwanego produktu czas rozdziału produktów na żelu wynosił od 2,5 do 4 godzin. Detekcja produktów amplifikacji dla genu *Pm21* (marker *NAU/xibao*), genu *Lr47* (marker *PSAPSR+PS10L+PS10L2*) oraz genu *Lr55* (markery nieznakowane DArT), została przeprowadzona w systemie dodatkowego chłodzenia na 1,5% żelu agarozowym przy napięciu 240 V, w czasie od 3 do 4 godz. w buforze 0,5 × TBE. Do próbek DNA dodano po 4 µl barwnika, który ułatwił nakładanie próbek do studzienek w żelu. Obdarzony ładunkiem ujemnym barwnik wraz z cząsteczkami DNA migruje w kierunku dodatniego bieguna, informując tym samym o przebiegu rozdziału produktów. Otrzymane obrazy rozdziału wizualizowane były przy użyciu bromku etydy, który pod wpływem światła UV świecąc na pomarańczowo przekazuje obraz do systemu Gel Logic 200 (Eastman Kodak Company, Rochester, NY 14650, USA).

Analiza uzyskanych obrazów elektroforetycznych oceniana była wizualnie. Do wyodrębnienia roślin o korzystnej kombinacji genów odporności, zostały wykorzystane wzorce – matryce odmian bez wprowadzanych genu(ów) odporności, jako kontrola negatywna oraz matryce źródeł odporności, jako kontrola pozytywna.

Wyniki

Selekcja fenotypowa i molekularna populacji mieszańcowych

W 2016 roku łącznie selekcjonowano fenotypowo 600 roślin. Na podstawie oceny reakcji odporności/podatności, do analiz molekularnych wybrano 300 roślin. Wszystkie wyselekcjonowane do selekcji molekularnej rośliny według testów fitopatologicznych, odporne były na rdzę brunatną oraz mączniaka prawdziwego. Przy użyciu specyficznych markerów molekularnych przeprowadzono selekcję roślin pod kątem potwierdzenia obecności wprowadzonych kombinacji genów odporności. Łącznie przebadano molekularnie 13 populacji mieszańcowych BIO. Na podstawie przeprowadzonych analiz molekularnych wyselekcjonowano do dalszych badań łącznie 35 linii.

Analiza materiału roślinnego *F*₂ czterech populacji mapujących: (*Lr55*×*Bogatka*), (*Lr55*×*Nadobna*), (*Lr55*×*Kampana*), (*Lr55*×*Muszelka*)

Na 400 roślinach przeprowadzono selekcję fenotypową materiału roślinnego pod kątem oceny rozszczepienia populacji na obiekty podatne oraz odporne.

Trawienie enzymami restrykcyjnymi

Trawienie enzymami przeprowadzono na zestawie 15 markerów DArT z wykorzystaniem 15 enzymów restrykcyjnych dla każdego z markerów. W sumie przetestowano 255 różnych kombinacji marker DArT / restryktaza. Na podstawie otrzymanych wyników trawienia, wyselekcjonowano łącznie dla wszystkich testowanych matryc (odmian) 87 polimorficzne kombinacje matryca / marker / enzym.

Wnioski

1. W dotychczasowych badaniach, na drodze krzyżowań udało się wprowadzić i potwierdzić wprowadzane geny odporności.
2. Wykorzystywane w badaniach markery molekularne potwierdzają skuteczne ich wykorzystywanie w selekcji materiału roślinnego pod kątem odporności na rdzę brunatną oraz mączniaka prawdziwego.
3. Na podstawie otrzymanych wyników trawienia, wyselekcjonowano łącznie dla wszystkich testowanych matryc (odmian) 87 polimorficzne kombinacje matryca / marker / enzym.

3.2. Temat badawczy 2 – Poszukiwanie nowych źródeł odporności

Cel

W 2016 rok, celem tematu badawczego 2 było kontynuowanie pozyskiwania nowych efektywnych i trwałych źródeł odporności na rdzę brunatną oraz mączniaka prawdziwego. Na podstawie dostępnej literatury naukowej i współpracy z zagranicznymi placówkami naukowymi pozyskano nowe źródło odporności. Materiał roślinny rozmnożono, a następnie oceniono stopień odporności/podatności sprowadzonego(ych) źródła(ła) w odniesieniu do izolatów *Blumeria graminis* oraz *Puccinia recondita*.

Materiały i metody

Zestaw różnicujący oraz ocena doświadczenia na rdzę brunatną

Materiałem roślinnym były 2 nowe źródła odporności - linia z kombinacją genów *Lr*: (*Lr16+Lr34*) oraz linia *Lr67(Pm46)*, oraz zestaw testowy na rdzę brunatną – 53 linii/odmian, w tym wzorzec – odmiana podatna – Tc. Doświadczenia fitopatologiczne przeprowadzane były w warunkach kontrolowanych (szklarnia, fitotron). Ocena stopnia odporności/podatności nowych źródeł oraz linii testowych została przeprowadzona na podstawie reakcji na zakażenie 28 izolatami *P. recondita*. Doświadczenie fitopatologiczne powtórzono w 3 powtórzeniach. Od lutego br., izolaty stanowią własność KCRZG IHAR-PIB.

Doświadczenia fitopatologiczne prowadzone były w warunkach kontrolowanych, przy fotoperiodzie 16 godz. światła i 8 godz. ciemności oraz w temperaturze w zakresie 16-22°C. Testowane rośliny zakażane były zawieszoną zarodników *P. recondita* f.sp. *tritici*, zawierającej 1-2 kropli środka zmniejszającego napięcie powierzchniowe Tween-20. Po 8-10 dniach od inokulacji oceniano reakcję roślin wykorzystując do tego pięciostopniową skalę Levine i Cherewick, gdzie rośliny o reakcji 0-2 oceniano jako odporne, 3-4 jako podatne.

Zestaw różnicujący oraz ocena doświadczenia na mączniaka prawdziwego

W testach fitopatologicznych materiał roślinny stanowiło jedno nowe źródło odporności – linia *Pm46(Lr67)*, oraz zestaw testowy na mączniaka prawdziwego – 33 linie/odmiany, w tym wzorzec – odmiana Nimbus (kontrola podatna). Doświadczenia fitopatologiczne wykonane były w warunkach kontrolowanych (szklarnia, fitotron). Ocena stopnia odporności/podatności nowego źródła odporności oraz linii testowych została przeprowadzona na podstawie reakcji na zakażenia 80 izolatami pszenicznymi *B. graminis* – doświadczenie zostało wykonane w dwóch powtórzeniach oraz 12 izolatami pszenżytnymi *B. graminis* – doświadczenie wykonano w trzech powtórzeniach. Od lutego br., izolaty stanowią własność KCRZG IHAR-PIB.

Doświadczenia fitopatologiczne prowadzone były w warunkach kontrolowanych, przy fotoperiodzie 16 godz. światła i 8 godz. ciemności oraz w temperaturze w zakresie 16-22°C. Zarodniki namnożone na roślinach odmiany podatnej Nimbus, były równomiernie strząsane nad roślinami odmian i linii zestawu różnicującego. Do izolacji przestrzennej wykorzystano namioty foliowe. Ocenę fenotypową stopnia porażenia odmian i linii poszczególnymi izolatami grzyba *B. graminis* przeprowadzano po ok. 8 dniach wykorzystując pięciostopniową skalę (0-4), w której: 0 = brak widocznych objawów porażenia; 1 = niewielkie nekrozy; 2 = powiększające się nekrozy wraz ze skąpym zarodnikowaniem; 3 = chlorozy, grzybnia rozwinięta, lecz słabo zarodnikująca; 4 = dobrze rozwinięta grzybnia i zarodnikująca grzybnia (Mains i Dietz, 1930) (odmiany/linie o reakcji 0-2, tworzyły grupę odpornych natomiast rośliny o reakcji 3-4 grupę podatnych).

Wyniki

Na podstawie przeprowadzonych badań określono poziom odporności / podatności zarówno nowych źródeł odporności jak i odmian / linii testowych w odniesieniu do zestawu izolatów, które charakteryzowały się zróżnicowanym stopniem wirulencji. Doświadczenia obejmujące ocenę źródeł

odporności pod kątem reakcji na populację *P. recondita* potwierdziły, że za efektywne źródła odporności można uznać odmiany / linie z genami: *Lr41*, *Lr55*, *Lr62*, *Lr42*. Nowe źródła odporności (*Lr16+Lr34*) oraz *Lr67(Pm46)* dla wszystkich zastosowanych 28 izolatów w trzech powtórzeniach charakteryzowały się całkowitym porażeniem przez *P. recondita* oceniane w skali 0-4 jako 4 (rośliny podatne).

Badania fitopatologiczne pod kątem odporności na mączniaka prawdziwego pszenicy wytypowały odmiany / linie całkowicie odporne na *B. graminis*, oceniane również w skali (0-4) jak 0-0, czyli rośliny na liściach których brak było jakichkolwiek objawów porażenia przez patogena. Na podstawie przeprowadzonych badań, stwierdzono, że za efektywne źródła odporności na mączniaka prawdziwego można uznać odmiany / linie z genami: *Pm21*, *Pm34*, *Pm37*. 80 izolatów pszenicznych oraz 12 pszenżytnich było awirulentne do wyżej wymienionych źródeł odporności. Natomiast, linia *Pm46* w odniesieniu do wszystkich zastosowanych izolatów (92) charakteryzowała się całkowitą podatnością, ocenianą w skali (0-4) jako 4, na liściach których bardzo dobrze rozwinięta była grzybnia wraz z zarodnikami.

Wnioski

1. Izolaty *P. recondita* oraz *B. graminis* charakteryzowały się zróżnicowanym stopniem wirulencji w stosunku do genów odporności obecnych w zestawie odmian i linii różnicujących.
2. Za efektywne źródła odporności na rdzę brunatną można uznać linie z genami: *Lr41*, *Lr55*, *Lr62*, *Lr42*.
3. Nowe źródła odporności (*Lr16+Lr34*) oraz *Lr67(Pm46)* charakteryzowały się podatnością na populację *P. recondita*.
4. Za efektywne źródła na mączniaka prawdziwego można uznać odmiany / linie z genami: *Pm21*, *Pm34*, *Pm37*.
5. Nowe źródło odporności na mączniaka prawdziwego – linia *Pm46* charakteryzowała się reakcją podatności na populację *B. graminis*.

3.3. Temat badawczy 3 – Ocena linii w różnych warunkach środowiskowych

Cel

Celem tematu badawczego jest ocena wyselekcjonowanego w 2015 roku materiału roślinnego pod kątem odporności linii na takie choroby jak: rdze - brunatną oraz żółtą, mączniaka prawdziwego oraz septoriozy. Końcowy etap prowadzonych prac polegał na selekcji genotypów o spiramidyzowanym tle genetycznym oraz o korzystnych cechach gospodarczych.

Materiał i metody

W trzech miejscowościach: Radzików (IHAR-PIB), Strzelce (HR Strzelce) oraz Smolice (HR Smolice), jesienią 2015 roku założono jednopowtórzeniowe doświadczenia.

W doświadczeniach selekcyjnych w Radzikowie materiał roślinny stanowiło łącznie **50 linii** pochodzących z trzech populacji mieszańcowych BIO. Ocena materiału roślinnego w Radzikowie dokonywana była w cotygodniowych odstępach czasu, w różnych etapach wegetacji roślin, w odniesieniu do dwóch odmian wzorcowych: Ozon oraz Patras. W ocenie obiektów roślinnych uwzględniono łącznie 7 cech tj.: (1) przetrzymywanie linii, (2) określono termin kłoszenia, (3) zmierzono wysokość linii, oceniono stopień odporności/porażenia na choroby: (4) rdza brunatna oraz (5) żółta, (6) mączniak prawdziwy, (7) septoriozy.

W doświadczeniach selekcyjnych przeprowadzonych w stacjach badawczych materiał roślinny stanowiło łącznie **510 linii** pszenic ozimych (po 255 obiektów na każdą ze stacji badawczych).

Wyniki

Przebieg doświadczenia w Radzikowie w sezonie 2015/16

Materiał roślinny przetrzymał w 88% (6 linii nie weszło). W sezonie 2015/16 na poltku doświadczalnym w Radzikowie panowały niekorzystne warunki klimatyczne. Długotrwała susza prawdopodobnie spowodowała brak występowania mączniaka prawdziwego. Jedynie na dwóch roślinach odnotowano minimalne porażenie *B. graminis*. Rdza brunatna również wystąpiła w bardzo słabym nasileniu i poraziła 3 linie. Podobnie jak w latach poprzednich, również i w tym sezonie odnotowano intensywne porażenie obserwowanych populacji mieszańcowych przez rdzę żółtą (60% linii porażonych). Na podstawie przeprowadzonych obserwacji, wyselekcjonowano do dalszych badań 16 linii, które zostały wysiane jesienią br. na poltku doświadczalnym w Radzikowie.

Przebieg doświadczenia – Hodowla Roślin Strzelce w sezonie 2015/16 (Umowa nr 9/2016/I)

Jesienią 2015 roku wysiano 255 linii pszenicy ozimej pochodzących z różnych kombinacji krzyżówkowych, przekazanych nam przez stronę Zamawiającą. Genotypy te wysiano w siewie rzędowym, na każde poltko o powierzchni 2 m² przypadało 6 rzędów (linii kłosowych). W czasie wzrostu roślin na wysianych genotypach zostały wykonane zalecane zabiegi agrotechniczne (oprysk na chwasty, zwalczanie owadów w okresie wegetacji oraz pogłówna nawożenie azotowe). W trakcie

wegetacji przeprowadzono następujące obserwacje: ocenę występowania mączniaka prawdziwego (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*), rdzy brunatnej (*Puccinia recondita* f. sp. *tritina*), rdzy żółtej (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) oraz septoriozy liści (*Septoria nodurum*). Ocenę porażenia chorobami grzybowymi wykonano w skali 9-cio stopniowej, gdzie 1- oznacza całkowite porażenie do 9- brak objawów porażenia. Dla każdej linii wykonana została również połowa ocena przezimowania również w skali 9-cio stopniowej, gdzie 1- oznaczało całkowite wymarzenie roślin do 9- przezimowanie bez uszkodzeń. Należy zaznaczyć, iż porażenie chorobami grzybowymi na testowanych liniach było słabe w skutek braku opadów oraz wysoką temperaturę w terminach obserwacji polowych. Ocena materiału dokonywana była w odniesieniu do trzech wzorców: Pokusa, Bamberka oraz Tonacja. Wszystkie oceny porażenia chorobami wykonane zostały w czerwcu. Większość obserwowanych linii charakteryzowała się wysokim stopniem odporności na rdzę oraz mączniaka. Wszystkie materiały cechowały się wczesnym lub bardzo wczesnym terminem kłoszenia oraz dobrym przezimowaniem w surowych warunkach zimy 2016. Materiały nie wyrównane o różnych wysokościach, w obrębie jednego rzędka występują formy ościste oraz formy o normalnym typie kłosa. W obserwowanych genotypach występuje rozszczepienie pod względem odporności na przezimowanie. Na podstawie przeprowadzonych obserwacji do doświadczeń zakładowych wytypowano 40 linii.

Przebieg doświadczenia – Hodowla Roślin Smolicew sezonie 2015/16 (Umowa nr 9/2016/2)

Na poletkach doświadczalnych wysiano łącznie 255 linii (85 linii po 3 kłosa). W okresie wegetacji dokonano obserwacji: wschodów, przezimowania, kłoszenia, wylegania oraz porażenia rdzą brunatną i żółtą oraz mączniakiem prawdziwym. Wszystkie materiały powschodziły i przezimowały bardzo dobrze. Rdza brunatna wystąpiła w bardzo słabym nasileniu i poraziła jedną linię 89/1 (ocena 4). Mączniak prawdziwy nie wystąpił. Spośród badanych materiałów 4 linie 128/2, 129/3, 131/1, 142/2 zostały włączone jesienią 2016 roku do doświadczeń zakładowych I. Ponadto, z 3 rodów badanych w latach 2015/16 w doświadczeniach zakładowych, jeden uzyskał odpowiedni plon i charakteryzował się wysoką odpornością. Dlatego też, został włączony do doświadczeń zakładowych 2016/17.

Wnioski

1. Na podstawie przeprowadzonych obserwacji w trzech miejscowościach (Radzików, Strzelce, Smolice) w sezonie 2015/16 mączniak prawdziwy praktycznie nie wystąpił (porażane były w minimalnym stopniu pojedyncze rośliny).
2. Na poletkach doświadczalnych w trzech stacjach badawczych rdza brunatna wystąpiła również w bardzo słabym nasileniu i porażone zostały pojedyncze obiekty.
3. W Radzikowie oraz w Smolicach zoobserwowano średnie i/lub silne porażenie materiału roślinnego rdzą żółtą.
4. W HR Strzelce nie odnotowano występowania rdzy żółtej.
5. Na podstawie przeprowadzonych obserwacji w trzech miejscowościach wytypowano genotypy o wysokiej odporności na choroby jak i o wysokiej wartości gospodarczej jednocześnie.