**4-1-01-4-01: „Mapowanie asocjacyjne genów odporności na rdzę brunatną (*Puccinia triticina*) i septoriozę paskowaną liści (*Septoria tritici*) w pszenicy” (dr hab. Paweł Cz. Czembor, prof. Instytutu)**

*Cele zadania:*

Zadanie obejmowało dwa tematy:

1. **Ocena porażenia odmian/linii pszenicy ozimej w stadium rośliny dorosłej przez *Septoria tritici* (test St-5).** Celem tego tematu było określenie reakcji fenotypowej 200 odmian/linii pszenicy ozimej na zakażenie izolatem *S. tritici*.
2. **Genotypowanie DArT-seq odmian/linii pszenicy.** Celem tematu było wykonanie genotypowania zestawu odmian i linii pszenicy przy zastosowaniu technologii DArT-seq.

*Wyniki i dyskusja*:

*Ad 1).*

Do badań wykorzystano zestaw 200 odmian/linii pszenicy składający się z 82 odmian pszenicy ozimej z krajowej listy opisowej odmian COBORU (2013), 93 odmian zarejestrowanych w innych krajach europejskich oraz 25 odmian/linii różnicujących reakcję odpornościową na zakażanie *S. tritici* (Czembor i in. 2011, Tabib Ghaffary i in. 2012). Na potrzeby realizacji tematu, jesienią 2018 roku założono doświadczenie w układzie dwóch losowych bloków (dwa powtórzenia), wysiewając odmiany/linie w pojedynczych jednometrowych rządkach. Późną wiosną rośliny z rozwiniętym w pełni liściem flagowym zakażano izolatem *S. tritici* IPO86036. Po około trzech tygodniach przeprowadzono ocenę reakcji fenotypowej każdego obiektu, oceniając liście flagowe pod względem procentu powierzchni liścia pokrytego nekrozą (NEC) oraz owocnikami grzyba (piknidiami) (PYC). Precyzyjne określenie parametrów chorobowych wykonane zostało przy użyciu komputerowej analizy obrazu porażonych liści (WinCam 2010, Regent Instruments Inc., Kanada). W celu wyróżnienia odmian charakteryzujących się podobną reakcją fenotypową zastosowano analizę skupień aglomeracyjnego grupowania hierarchicznego (ang. agglomerative hierarchical clustering, AHC) przy użyciu algorytmu UPGA (ang. unweighted pair-group average) (program komputerowy Genstat 19, VSNI, W. Brytania). W wyniku analizy otrzymano 6 grup obiektów. Najliczniejsza grupa zawierała 130 genotypów, dla których parametr NEC zawierał się w przedziale 19,67 – 70,71%, a PYC 0,15 – 20,9%. Wśród obiektów przypisanych do tej grupy znalazło się 11 odmian/linii o najwyższym poziomie odporności na STB (pokrycie nekrozą<30% oraz pokrycie piknidiami<10%): Kranich, Desamo, Lear, Jenga, Zappa, Intro, Glaucus i Erasmus oraz 3 linie/odmiany opisanymi w litearturze loci odporności na STB: M3 synthetic (W-7976)(*Stb16q*(3DL) + *Stb17*(5AL)), Solitar (QTLe na chromosomach 5A, 6D i 7D) i Tuareg (QTLe na chromosomach 4B i 6B + *Stb6*). Do odmian, które charakteryzowały się największym procentem powierzchni liścia pokrytej nekrozą należały Alcazar, Lucilla i Bulgaria88 (*Stb1*(5BL) + *Stb6*), natomiast te z największym procentem powierzchni liścia pokrytej piknidiam to: Chinese Spring (*Stb4*, *Stb5*, QTL-7D), Veranopolis (*Stb2*(1BS) + *Stb6*) i Estanzuela Federal (*Stb7*(4AL)). W prowadzonych wcześniej badaniach (Czembor i in. 2011) określono spektrum wirulensji 23 izolatów *S. tritici* na zestaw odmian posiadających znane geny odporności w stadium siewki. W badanym zestawie izolat IPO86036 był awirulentny w stosunku do odmian: Arina (*Stb15*+*Stb6*), Tadinia (*Stb4*+*Stb6*) i Liwilla (odporność ilościowa). Odmiany te nie wykazały jednak w tegorocznym doświadczeniu tak dużej odporności, co być może wynika z innego (mniejszego) poziomu ekspresji genów we wspomnianych odmianach w stadium rośliny dorosłej. Pokrycie powierzchni liścia nekrozą wyniosło dla nich odpowiednio 69,1%, 47,2% i 61,4%, natomiast pokrycie piknidiami 11,8%, 2,1% oraz 7,0%. Do odmian/linii referencyjnych odpornych na badany izolat *S.tritici* w tegorocznych testach należały natomiast M3 synthetic (W-7976)(*Stb16q*(3DL) + Stb17(5AL)), Solitar (QTLe na chromosomach 5A, 6D i 7D) i Tuareg (QTLe na chromosomach 4B i 6B + *Stb6*). Może to świadczyć o tym, że odporność na STB w dużej części odmian europejskich jest uwarunkowana przez kilka loci odporności w tym o charakterze ilościowym jak i o efektach głównych.

*Ad 2)*

Do analiz molekularnych wykorzystano zestaw 188 genotypów pszenicy, który obejmował linie zestawu różnicującego o znanych genach odporności, odmiany pszenicy ozimej z krajowej listy opisowej odmian COBORU (2013) oraz odmiany zarejestrowane w innych krajach europejskich. Siewki wybranych odmian/linii posłużyły do wyizolowania DNA metodą CTAB (Murray and Thompson 1980). Wyizolowane DNA zostało wysłane do analizy w technologii DArT-seq (Diversity Arrays Technology P/L, Australia). W wyniku analizy otrzymano dwa zestawy danych. Pierwszy zestaw zawierał 72 559 markerów silicoDArT – markerów dominujących, wskazujących na obecność lub brak danej sekwencji w próbce (PAV – ang. present – absent variants). Drugi zestaw zawierał natomiast 54 501 markerów DArTsnp – markerów kodominujących z wyszczególnionymi polimorfizmami pojedynczych nukleotydów. Dane uzyskane w wyniku genotypowania zostaną wykorzystane w badaniach asocjacji w skali całego genomu (GWAS – ang. genome-wide association studies). Na tym etapie realizacji tematu brak wyników do dyskusji.

1. ***Podsumowanie i wnioski:***

Septorioza paskowana liści to choroba grzybowa wywoływana przez patogen *Mycosphaerella graminicola* (anamorfa: *Zymoseptoria* *tritici*, syn. *Septoria* *tritici*). STB należy do najbardziej szkodliwych chorób pszenicy i w sprzyjających warunkach może powodować straty w plonie ziarna sięgające nawet 40% (Eyal i in. 1987, McKendry i in. 1995), dlatego kładzie się ogromny nacisk na hodowlę odmian odpornych. W celu lepszego wykorzystania genów odporności w programach hodowlanych, konieczna jest znajomość ich występowania w obecnie uprawianych odmianach. Wynik tegorocznej analizy skupień pozwala przypuszczać, że w dużej części odmian europejskich odporność na STB jest uwarunkowana przez kombinację loci odporności o charakterze ilościowym jak i o efektach głównych. Obecność genów odporności w nieznanym genotypie można postulować porównując reakcję fenotypową badanych odmian/linii w odpowiedzi na zakażanie izolatami, z reakcją zestawu różnicującego o znanych genach odporności, ale w przypadku większej liczby loci odporności zwłaszcza o charakterze ilościowym metoda ta jest bardzo zawodna. Znacznie lepszym podejściem jest planowana analiza asocjacji (odporności względem sekwencji DNA) w skali całego genomu (GWAS – ang. genome-wide association studies) zaplanowanych na następny rok realizacji tematu.

***Literatura***

COBORU. 2013. Strona internetowa: http://www.coboru.pl/Polska/Rejestr/gat\_w\_rej.aspx (wersja 10.01.2013)

Czembor P.Cz., Radecka-Janusik M. and Mańkowski D. 2011. Virulence spectrum of Mycosphaerella graminicola isolates on wheat genotypes carrying known resistance genes to septoria tritici blotch. Journal of Phytopathology 159: 146–154.

Eyal Z, Scharen AL, Prescott JM, van Ginkel M (1987) The Septoria diseases of wheat: concepts and methods of disease management. CIMMYT, Mexico

McKendry A.L., Henke G.E., Finney P.L. 1995. Effects of septoria leaf blotch on soft red winter wheat milling and baking quality. Cereal Chemistry 72: 142-146.

Murray AA, Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Res 8:4321–4325

Tabib Ghaffary S.M., Faris J.D., Friesen T.L., Visser R.G.F, van der Lee T.A.J., Robert O., Kema G.H.J. 2012. New broad-spectrum resistance to septoria tritici blotch derived from synthetic hexaploid wheat. Theor Appl Genet 124:125-142.

***Najważniejsze osiągnięcia naukowe i praktyczne***

W wyniku analizy porażenia liścia flagowego odmian/linii pszenicy ozimej przez septoriozę paskowaną wyłoniono 11 najodporniejszych odmian/linii: Kranich, Desamo, Lear, Jenga, Zappa, Intro, Glaucus i Erasmus oraz 3 linie/odmiany z opisanymi loci odporności na STB: M3 synthetic (W-7976)(Stb16q(3DL) + Stb17(5AL)), Solitar (QTLe na chromosomach 5A, 6D i 7D) i Tuareg (QTLe na chromosomach 4B i 6B + Stb6).

***Wykorzystanie uzyskanych wyników***

Wyłonione najodporniejsze odmiany/linie pszenicy mogą być wykorzystane w programach hodowlanych jako dobre źródło odporności na S*eptoria* *tritici*.

***Krótka informacja o wynikach współpracy naukowo-technicznej krajowej i z zagranicą***

Brak

***Wykaz prac opublikowanych w roku sprawozdawczym***

1. Czembor P., Piaskowska D. 2019. *Resistance of European winter wheat cultivars to Zymoseptoria tritici isolate IPO86036*. **Abstract**, “5th Conference on Cereal Biotechnology and Breeding”, Węgry, Budapeszt, 4-7.11.2019.
2. Czembor P.Cz., Radecka-Janusik M., Czajowski G. 2019. *Postulowanie genów odporności na rdzę liściową (Puccinia triticina) wśród europejskich odmian pszenicy ozimej.* **Streszczenie**, XIV Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Nauka dla Hodowli i Nasiennictwa Roślin Uprawnych”, Zakopane 5-8 luty 2019.
3. Czembor P.Cz., Radecka-Janusik M. 2019. *Pokrewieństwo genetyczne europejskich odmian pszenicy ozimej.* **Streszczenie**, XIV Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Nauka dla Hodowli i Nasiennictwa Roślin Uprawnych”, Zakopane 5-8 luty 2019.
4. Czembor P.Cz., Radecka-Janusik M., Czajowski G. 2019. *Postulowanie genów odporności na rdzę liściową (Puccinia triticina) wśród europejskich odmian pszenicy ozimej.* Biuletyn IHAR, 285: 291-292.
5. Czembor P.Cz., Radecka-Janusik M. 2019. *Pokrewieństwo genetyczne europejskich odmian pszenicy ozimej.* Biuletyn IHAR, 285: 291-292.

***Wykłady***

Brak

***Plakaty***

1. ***Konferencja***: XIV Ogólnopolska Konferencja Naukowa, pt. „Nauka dla hodowli i nasiennictwa roślin uprawnych”. Zakopane, 5-8.02.2019.

**Poster 1**. Czembor P., Radecka-Janusik M., Czajowski G. *Postulowanie genów odporności na rdzę liściową (Puccinia triticina) wśród europejskich odmian pszenicy ozimej*.

**Poster 2**. Czembor P., Radecka-Janusik M. *Pokrewieństwo genetyczne europejskich odmian pszenicy ozimej****.***

1. ***Konferencja***: 5th Conference on Cereal Biotechnology and Breeding (Budapeszt, Węgry, 4-7 listopada 2019).

**Poster 1**. Czembor P., Piaskowska D. ***Resistance of European winter wheat cultivars to Zymoseptoria tritici isolate IPO86036***.