



Mapowanie asocjacyjne genów odporności na rdzę brunatną (*Puccinia triticina*) i septoriozę paskowaną liści (*Septoria tritici*) w pszenicy

Kierownik: dr hab. Paweł Czembor, prof. Instytutu
Zakład Genetyki i Hodowli Roślin (ZGiHR), Pracownia Genetyki Stosowanej (PGS)
(e-mail: p.czembor@ihar.edu.pl)

Wykonawcy: dr Magdalena Radecka-Janusik (ZGiHR, PGS)
dr Urszula Piechota (ZGiHR, PGS)
dr Grzegorz Czajowski (ZGiHR, PGS)
mgr Dominika Piaskowska (ZGiHR, PGS)
mgr Piotr Słowacki (ZGiHR, PGS)
dr hab. Dariusz Mańkowski, prof. Instytutu
(Zakład Nasiennictwa i Nasionoznawstwa, Pracownia Ekonomiki Nasiennictwa i Hodowli Roślin)

Pomoc techniczna: mgr Alina Sołtys (ZGiHR, PGS)
mgr Magdalena Pałuba (ZGiHR, PGS)

Okres realizacji: 2014-2020

Numer zadania: 4 (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. poz. 1170 z późn. zmianami))

Cel badań

Celem badań było postulowanie genów odporności na septoriozę paskowaną (*Septoria tritici*) i rdzę brunatną (*Puccinia triticina*) w europejskich odmianach pszenicy. Typowanie genów odporności było wsparte wykorzystaniem markerów molekularnych zarówno blisko sprzężonych ze znanymi genami jak i umożliwiających profilowanie całego genomu na potrzeby mapowania asocjacyjnego.

Cele szczegółowe:

- 1) Ocena reakcji odmian i linii pszenicy na zakażanie izolatami *P. triticina* (wykonanie – **100%**)
- 2) Analiza występowania markerów molekularnych sprzężonych ze znanymi genami odporności *Lr* na rdzę brunatną (*P. triticinia*) (wykonanie – **100%**)
- 3) Mapowanie asocjacyjne genów odporności *Lr* w odmianach i liniach pszenicy (wykonanie – **100%**)
- 4) Ocena reakcji odmian i linii pszenicy na zakażanie izolatami *S. tritici* (wykonanie – **100%**)
- 5) Mapowanie asocjacyjne genów odporności na septoriozę paskowaną w odmianach i liniach pszenicy (wykonanie – **100%**)

Materiały i metody

Odporność pszenicy na rdzę brunatną

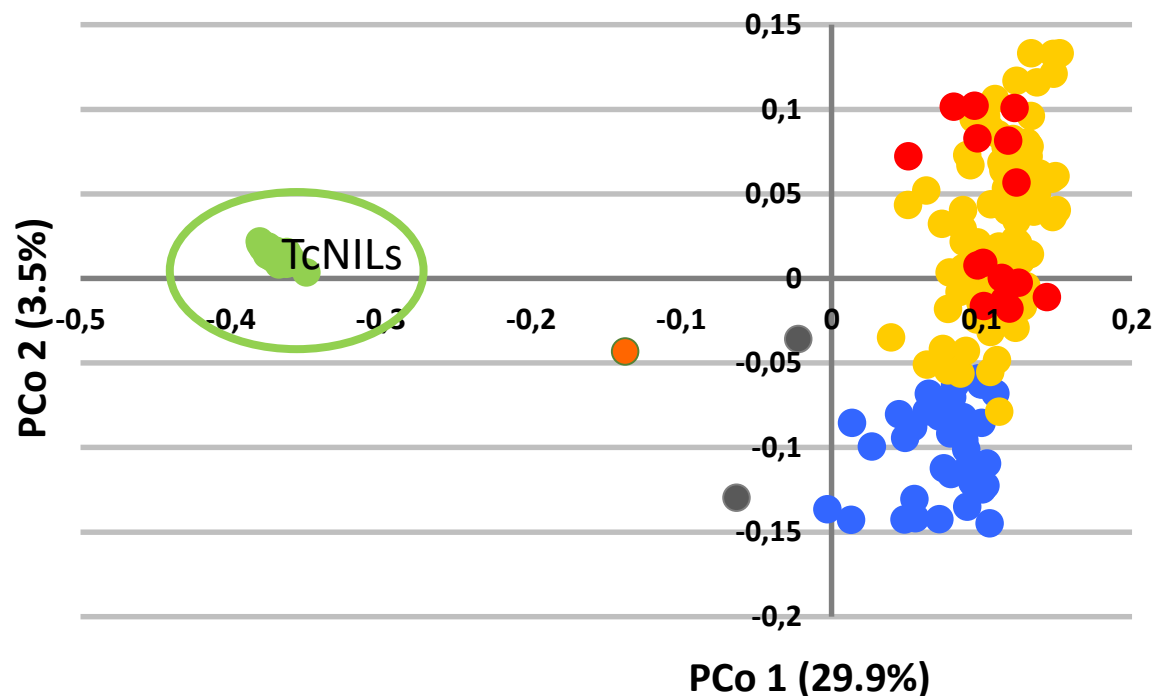
- 1) Ocena reakcji co najmniej 188 europejskich odmian i linii pszenicy (w tym linii blisko-izogenicznych odm. Thatcher, tzw. TcNILs zawierających znane geny *Lr*) w stadium siewki (warunki kontrolowane) na zakażanie 18 pojedynczymi izolatami ***P. triticina***.
- 2) Ocena reakcji co najmniej 188 europejskich odmian i linii pszenicy (w tym genotypów zawierających znane geny *Stb*) w stadium rośliny dorosłej (liść flagowy) na zakażanie 5 pojedynczymi izolatami ***S. tritici***. Ocena dwóch parametrów chorobowych: **NEC** - % powierzchni liścia pokryty nekrozą i **PYC** - % powierzchni liścia pokryty piknidiami (owocnikami grzyba)
- 3) Genotypowanie pszenicy na platformie DArT-seq (**markery SNP**).
- 4) Analiza występowania markerów molekularnych sprzężonych genami odporności *Lr1*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr19*, *Lr20*, *Lr21*, *Lr24*, *Lr25*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr26*, *Lr37*, *Lr39*, *Lr47*, *Lr51* i *Lr52*.
- 5) **Mapowanie asocjacyjne genów odporności** na rdzę brunatną i septoriozę paskowaną liści w odmianach i liniach pszenicy oparte o metodę liniowego modelu mieszanego (ang. Linear Mixed Model, LMM) z uwzględnieniem struktury populacji.

Wyniki – rdza brunatna

Odporność pszenicy na rdzę brunatną

- ❑ Wśród badanych odmian pszenicy ozimej, odporność na wszystkie użyte izolaty *P. triticina* wykazywały jedynie odmiany Capone, Carroll, Desamo, Lear, Lithium, Memory, Tentation, Waxy i Xantippe oraz linie blisko-izogeniczne odm. Thatcher z genami *Lr9* i *Lr19*.

- ❑ Brak wyraźnej strukturyzacji populacji europejskich odmian pszenicy ozimej
- ❑ Wyraźne skupienie linii blisko-izogenicznych odm. Thatcher (TcNILs)



Rysunek. Struktura populacji odmian i linii pszenicy wyłoniona w analizie głównych współrzędnych opartej o podobieństwo molekularne.

Wyniki – rdza brunatna

Tabela. Wykryte geny odporności (*Lr*) na rdzę brunatną w odmianach pszenicy ozimej.

Odmiana	Gen <i>Lr</i>	Odmiana	Gen <i>Lr</i>	Odmiana	Gen <i>Lr</i>	Odmiana	Gen <i>Lr</i>	Odmiana	Gen <i>Lr</i>
Addict	28	Dorota		Julius	3bg	Mewa	3bg	Smaragd	37
Agape192	3bg	Edelrun		Kampana	37	Mikula	26	Smuga	
Akteur		Elipsa	24	Kantao	37	Modern		Solky	
Alcazar	37	Elixer	24, 28, 39	Kepler	37	Mulan	37	Sorokk	3bg
Arkadia		Ennsio	28	Kobiera		Muszelka	37	Speedway	28
Arktis	3bg, 37	Eperon		Kohelia		Muza	3bg	Stadium	
Armada	3bg	Eriwan		Kranich	37	MVLucilla	3bg	Sukces	
Artagnan	39	Eron	28	Kredo	26, 28	Naridana		Tabasco	28, 37, 39
Artist	37	Estevan		Kris	37	Natula		Tentation	24
Askalon	37	Estivus	3bg, 26	KWSCashel	20	Nocibe		Terroir	28
Astardo	3bg	Event	3bg	KWSDacanto	37	Nutka		Thalys	
Astoria		Fakir	39	KWSErasmus		Olivin		Tobak	28
Bagou	37	Fermi	28	KWSKielder	26	Operetka	37	Tonacja	
Baletka	34, 39	Fidelius	3bg,37	KWSLivius	37	Ostka Strzelecka		Torrild	
Bamberka	37	Figura		KWSMagic	24, 39	Ostroga	3bg	Tulecka	
Banderola	26, 37	Forkida	39	KWSOzon	3bg, 37	Oxal	26, 37	Türkis	3bg, 37
Batuta	39	Forum	26, 37	KWSPius	37	Pamier	26, 37	Turnia	
Belenus	26, 39	Fregata		Lahertis	26	Patras		Waxy	24, 37
Belepi	26, 28	Garantus	3bg, 37	Lavantus	3bg	Pengar	28	Wydma	
Bockris		Genius	37	Lear	28	Pionier	26, 37	Xantippe	24, 37
Bogatka	3bg	Gordian	28	Legenda	39	Platin	37	Zappa	28, 37, 39
Boomer	37	Granamax	37	Linus	37	Praktik	3bg, 26, 37	Zawisza	
Bystra	37	Grapeli	37	Lithium	24, 37	Rapsodia	26, 37	Zyta	
Calumet		Henrik		Look		Rebel	26, 37	Akratos	37
Capone	28, 37	Hermann	37	Ludwig		RGTDjoko	26, 28	Avalon	
Caroll	24, 39	Heros	28	Markiza	26	Rywalka		Avenir	37
Celebration	26, 37, 39	Ionesco	28	Matheo	28	Sailor	3bg, 26	Dickens	37
Cocoon	37	Jantarka		Meister	37, 51	Satyna	26	Etana	37
Desamo	24	Jenga	37	Memory	24, 26, 37	Scout	28	Justinus	37
Diderot		Joker	26, 37	Meteor	26, 37	Skagen		Muskat	

Wyniki – septorioza paskowana liści

- Wykryto 690 istotnych ($-\log_{10}(p) \geq 7,3$) asocjacji marker-cecha (MTA), z których 20 MTA wyjaśniało zmienność genetyczną co najmniej na poziomie 3% dla parametrów chorobowych NEC i PYC.
- Wyróżnione 20 MTA zidentyfikowano we wspólnych regionach (QTL) chromosomów 2B, 2D, 6A, 7A i 7D. Sumarycznie, wymienione QTL-e kontrolują zmienność w zakresie **16,8%–20,6%** i **22,5%–28,8%**, odpowiednio dla **NEC** i **PYC**.

Locus	QTL	Marker DArTsnp	Chr ¹	Mpz ²	Cecha ³	R ²
1	QStb.ihar-2B.1	1089780 F 0-20:C>T-20:C>T	2B	40,89	IPO86036_PYC	6,2%
1	QStb.ihar-2B.1	1125512 F 0-32:A>C-32:A>C	2B	41,11	IPO86036_PYC	3,6%
1	QStb.ihar-2B.1	1019298 F 0-27:T>G-27:T>G	2B	41,41	IPO86036_PYC	6,6%
2	QStb.ihar-2B.2	1233877 F 0-19:A>G-19:A>G	2B	669,34	St1_03_NEC	3,5%
2	QStb.ihar-2B.2	1084411 F 0-46:A>T-46:A>T	2B	682,99	St1_03_NEC	3,1%
2	QStb.ihar-2B.2	2290098 F 0-34:C>T-34:C>T	2B	712,36	St1_03_NEC	3,7%
2	QStb.ihar-2B.2	2290098 F 0-34:C>T-34:C>T	2B	712,36	IPO92006_NEC	3,1%
3	QStb.ihar-2D	6044667 F 0-26:A>T-26:A>T	2D	574,64	IPO86036_PYC	3,8%
3	QStb.ihar-2D	6044667 F 0-26:A>T-26:A>T	2D	574,64	IPO88004_NEC	7,1%
3	QStb.ihar-2D	6044667 F 0-26:A>T-26:A>T	2D	574,64	IPO88004_PYC	3,7%
3	QStb.ihar-2D	1266400 F 0-25:G>A-25:G>A	2D	587,30	IPO86036_PYC	6,3%
3	QStb.ihar-2D	1266400 F 0-25:G>A-25:G>A	2D	587,30	IPO88004_NEC	5,9%
3	QStb.ihar-2D	1266400 F 0-25:G>A-25:G>A	2D	587,30	IPO88004_PYC	3,0%
4	QStb.ihar-6A	4992211 F 0-62:T>C-62:T>C	6A	538,55	IPO86036_NEC	3,3%
4	QStb.ihar-6A	4992211 F 0-62:T>C-62:T>C	6A	538,55	IPO88004_NEC	5,3%
4	QStb.ihar-6A	4992211 F 0-62:T>C-62:T>C	6A	538,55	IPO88004_PYC	3,9%
4	QStb.ihar-6A	4992211 F 0-62:T>C-62:T>C	6A	538,55	St1_03_NEC	3,5%
5	QStb.ihar-7A	1082345 F 0-42:A>G-42:A>G	7A	48,06	IPO88004_PYC	8,8%
6	QStb.ihar-7D	1261971 F 0-43:A>G-43:A>G	7D	632,76	IPO88004_NEC	4,5%
6	QStb.ihar-7D	1261971 F 0-43:A>G-43:A>G	7D	632,76	IPO88004_PYC	3,2%

Tabela. Loci cech ilościowych (QTL) zidentyfikowanych w mapowaniu asocjacyjnym odporności odmian i linii pszenicy na septoriozę paskowaną, które wyjaśniają zmienność genetyczną na poziomie co najmniej $R^2 \geq 3\%$.

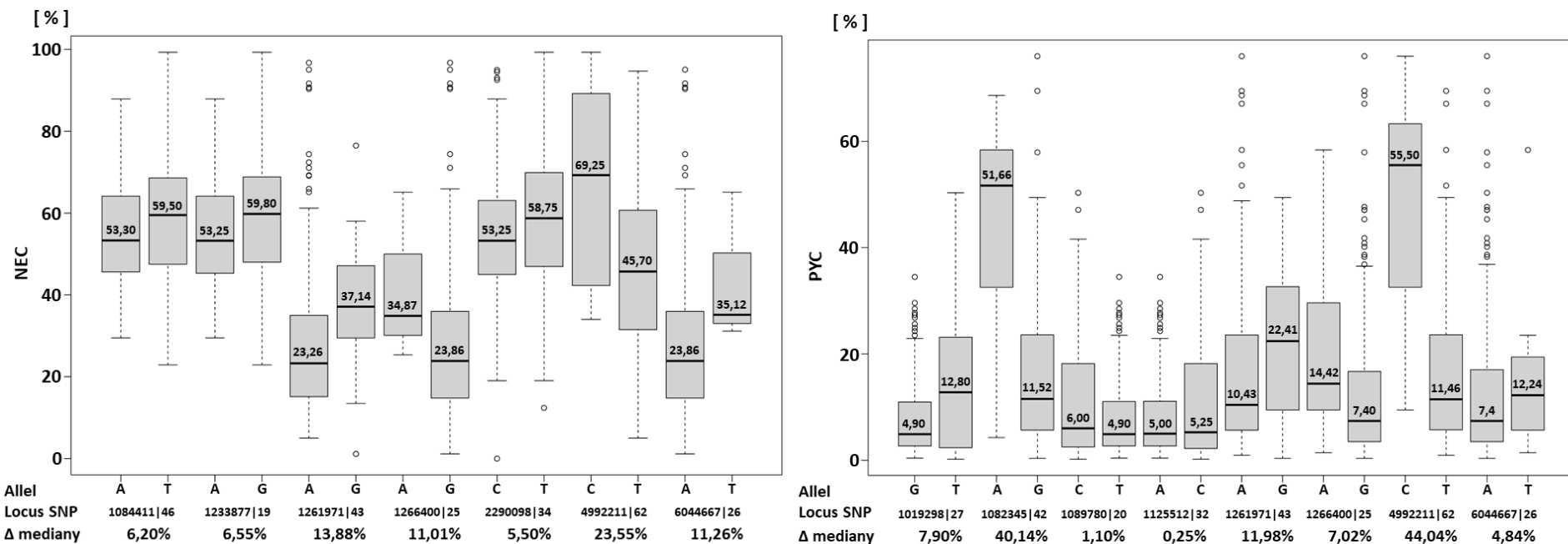
¹- chromosom;

²- lokalizcja fizyczna na mapie referencyjnej pszenicy (miliony par zasad);

³- nazwa cechy odnosząca się do izolatu *S. tritici* i ocenianego parametru chorobowego, tj. powierzchnia (%) liścia pokryta nekrozą (NEC) oraz powierzchnia (%) liścia pokryta piknidiami (PYC).

Wyniki – septorioza paskowana liści

Rysunek. Efekt alleli (wartość mediany) w loci markerów SNP (ang. Single Nucleotide Polymorphism) związanych z procentem powierzchni liścia flagowego pokrytego nekrozą (NEC) i piknidiami (PYC).



❑ Największą różnicę (delta mediany) w parametrze chorobowym **NEC** wynoszącą **23,55%** między odmianami o odmiennych allelach zanotowano dla locus SNP 4992211|62 oraz umiarkowaną różnicę dla 1261971|43, 1266400|25 i 6044667|26, która wynosiła odpowiednio 13,88%, 11,01% i 11,26%

❑ W przypadku parametru chorobowego **PYC**, największą różnicę (delta mediany) stwierdzono dla dwóch loci SNP 1082345|42 i 4992211|62, odpowiednio **40,14%** i **44,04%**; natomiast umiarkowaną różnicę (11,98%) odnotowano dla locus SNP 1261971|43.

Wnioski

- ❑ Analiza zmienności odmian i linii pszenicy europejskich oparta o markery molekularne ujawniła stosunkowo niewielką strukturyzację populacji badanych genotypów.
- ❑ Większość odmian europejskich zawiera nieefektywne geny odporności *Lr* na rdzę brunatną: 3bg, 20, 24, 26, 28, 37, 39 i 51. Całkowitą odporność na rdzę brunatną warunkują geny *Lr9* i *Lr19*.
- ❑ Wykryta część zmienności związanej z odpornością na septoriozę paskowaną liści (STB) w badanych odmianach i liniach pszenicy jest warunkowana przez wiele loci o charakterze ilościowym (QTL) o niewielkich efektach, które podlegają znacznemu wpływowi środowiska.
- ❑ Osiągnięcie podniesienia poziomu odporności na STB co najmniej o kilkanaście procent (obniżenie parametrów chorobowych NEC i PYC) wiąże się z kumulacją sześciu zidentyfikowanych w zadaniu QTL-i w jednym genotypie, co jest możliwe przy zastosowaniu markerów molekularnych w selekcji roślin.

Osiągnięcia

- ❑ Zidentyfikowano efektywne geny odporności pszenicy na rdzę brunatną, które można wykorzystać w programach hodowli odpornościowej.
- ❑ Określono uwarunkowanie odporności na septoriozę paskowaną liści w europejskich odmianach pszenicy.
- ❑ Wskazano możliwość podniesienia poziomu odporności na STB przy zastosowaniu zidentyfikowanych loci odporności.
- ❑ Wyniki realizacji zadania zostały wykorzystane do opracowania strategii wprowadzenia loci odporności na STB do odmian pszenicy ozimej zaproponowanych przez polskie Spółki Hodowli Roślin. Strategia została ujęta w zatwierdzonym do finansowania przez MRiRW projekcie, pt. „Septorioza paskowana liści pszenicy (*Zymoseptoria tritici*): struktura populacji grzyba, identyfikacja loci odporności w pszenicy oraz wprowadzenie efektywnych genów odporności do materiałów hodowlanych” (lata realizacji 2021-2027). Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 10 listopada 2020 r. (poz. 2016) zmieniające rozporządzenie w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa, zadanie nr 2 w załączniku do rozporządzenia.

Upowszechnianie wyników zadania

Doniesienia konferencyjne i inne nierecenzowane

1. Paweł Czembor, Piotr Słowacki, Magdalena Radecka-Janusik. 2015. Występowanie wybranych genów odporności na rdzę brunatną (*Puccinia triticina*) w europejskich odmianach pszenicy ozimej. XII Ogólnopolska Konferencja Naukowa, pt. „Nauka dla Hodowli i Nasiennictwa Roslin Uprawnych”, streszczenia referatów i plakatów, Zakopane, 2-6 lutego 2015, str. 299-300.
2. Paweł Czembor, Piotr Słowacki, Grzegorz Czajowski. 2015. Reakcja europejskich odmian pszenicy ozimej na zakażanie izolatami *Puccinia triticina* - sprawcy rdzy brunatnej pszenicy. XII Ogólnopolska Konferencja Naukowa, pt. „Nauka dla Hodowli i Nasiennictwa Roslin Uprawnych”, streszczenia referatów i plakatów, Zakopane, 2-6 lutego 2015, str. 297-298.
3. Czembor P.Cz., Radecka-Janusik M., Słowacki P. 2016. Detection of leaf rust resistance genes *Lr24*, *Lr25*, *Lr28*, *Lr34* and *Lr35* in winter wheat cultivars. The 20th EUCARPIA General Congress, 29.08-01.09. 2016, Zurich, Switzerland. Book of abstracts p.163.
4. Radecka-Janusik M., Czembor P.Cz., Słowacki P. 2016. Reaction of European winter wheat cultivars to six isolates of *Puccinia triticina*. The 20th EUCARPIA General Congress, 29.08-01.09. 2016, Zurich, Switzerland. Book of abstracts. p.184.
5. Radecka-Janusik Magdalena, Piotr Słowacki, Paweł Czembor. 2017. Występowanie genów odporności na rdzę brunatną *Lr26*, *Lr37*, *Lr39*, *Lr47*, *Lr51* i *Lr52* w europejskich odmianach pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L.). XIII Ogólnopolska Konferencja Naukowa, pt. „Nauka dla Hodowli i Nasiennictwa Roslin Uprawnych”, streszczenia referatów i plakatów, Zakopane, 30.01-03.02 2017, str. 136.
6. Radecka-Janusik Magdalena, Paweł Cz. Czembor. 2017. Reakcja europejskich odmian pszenicy ozimej na zakażanie sześcioma izolatami *Puccinia triticina*. XIII Ogólnopolska Konferencja Naukowa, pt. „Nauka dla Hodowli i Nasiennictwa Roslin Uprawnych”, streszczenia referatów i plakatów, Zakopane, 30.01-03.02 2017, str. 192.
7. Czembor Paweł Cz., Magdalena Radecka-Janusik. 2017. Resistance of European winter wheat cultivars to *Zymoseptoria tritici* isolate IPO88004. Proceedings of the 13th International Wheat Genetics Symposium, Tulln, Austria, 23.04-28.04.2017, p. 281.
8. Czembor P.C., Radecka-Janusik M., Mańkowski D. 2018. Genome wide association study of seedling leaf rust resistance in European winter wheat cultivars. EUCARPIA cereal section: Breeding cereals for sustainable agriculture. Francja, Clermont-Ferrand 18.03 – 22.03.2018. Book of Abstracts, poster 43, p. 96.
9. Czembor P.C., Radecka-Janusik M., Słowacki P. 2018. Resistance of European winter wheat cultivars to *Zymoseptoria tritici* isolate IPO92006. EUCARPIA cereal section: Breeding cereals for sustainable agriculture. Francja, Clermont-Ferrand 18.03 – 22.03.2018. Book of Abstracts, poster 44, p. 97.
10. Czembor P.Cz., Radecka-Janusik M., Czajowski G. 2019. Postulowanie genów odporności na rdzę liściową (*Puccinia triticina*) wśród europejskich odmian pszenicy ozimej. XIV Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Nauka dla Hodowli i Nasiennictwa Roślin Uprawnych”, Zakopane 5-8 luty 2019. Biuletyn IHAR, 285: 291-292.
11. Czembor P.Cz., Radecka-Janusik M. 2019. Pokrewieństwo genetyczne europejskich odmian pszenicy ozimej. XIV Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Nauka dla Hodowli i Nasiennictwa Roślin Uprawnych”, Zakopane 5-8 luty 2019. Biuletyn IHAR, 285: 291-292.
12. 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.
13. Czembor P.Cz., Mańkowski D., Słowacki P., Piaskowska D. 2019. Mapowanie asocjacyjne genów odporności na rdzę brunatną (*Puccinia triticina*) i septoriozę paskowaną liści (*Septoria tritici*) w pszenicy. Biuletyn IHAR 286: 3–7.