

Praca doktorska pt.

**„Selekcja genotypów pszenżyta ozimego o podwyższonej odporności na septoriozę liści i plew (*Parastagonospora nodorum*) z wykorzystaniem metod biotechnologicznych”.**

“Screening of winter triticale and wheat genotypes with increased resistance to *Septoria nodorum* blotch (*Parastagonospora nodorum*) using methods of biotechnology”

wykonana w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin  
– Państwowym Instytucie Badawczym w Radzikowie

o nadanie stopnia doktora nauk rolniczych w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplinie agronomia

Promotor: dr hab. Tomasz GÓRAL. Promotor pomocniczy: dr Piotr OCHODZKI  
IHAR-PIB, Zakład Biologii Stosowanej w Radzikowie

### **STRESZCZENIE**

Jednym z wyzwiań bezpieczeństwa żywnościowego XXI wieku jest poprawa stabilności plonów poprzez wprowadzenie odmian o podwyższonej odporności na czynniki abiotyczne. Nowoczesne odmiany są bardziej plenne, jednak podatne na szkodniki i choroby, dlatego konieczne jest stosowanie środków ochrony roślin. Ochrona chemiczna środkami grzybobójczymi jest skuteczna, jednak nie zawsze ekonomicznie uzasadniona i może być szkodliwa dla środowiska. *Parastagonospora nodorum*, czynnik sprawczy septoriozy liści i plew, jest jednym z najczęściej występujących patogenów pszenżyta ozimego na świecie. Choroba powoduje 31%-50% strat plonów, które w dużej mierze wynikają z obniżenia masy ziarna. Konwencjonalne metody hodowli roślin mogą być wspierane przez techniki biotechnologii np. somatyczną embriogenezę i androgenezę. W związku z tym podjęto próbę selekcji genotypów pszenżyta ozimego oraz ich somaklonów i podwojonych haploidów o podwyższonej odporności na septoriozę liści i plew. Do badań wybrano dziesięć izolatów *P. nodorum* o zróżnicowanej patogenności. Ocenie poddano dziewięć odmian pszenżyta (Algozo, Borwo, Borowik, Cyrkon, Fredro, Meloman, Tomko, Panteon, Pimej) oraz podwojone haploidy i somaklony otrzymane z odmian rodzicielskich. Badania przeprowadzono w warunkach kontrolowanego wzrostu oraz w warunkach polowych w latach 2018 - 2020. Podczas badań oceniono stopień porażenia liści w skali, gdzie 100% oznacza podatny, 0%-odporny przy pomocy programu ImageJ oraz w 9<sup>o</sup> skali, gdzie 1- roślina krańcowo podatna, 9 - roślina całkowicie odporna. Dodatkowo wykonano test wrażliwości na efektor białkowy SnTox3. Identyfikacja linii pszenżyta pozbawionych genów wrażliwości na SnTox3 jest obiecującym sposobem na zwiększenie odporności odmian na ten ważny ekonomicznie patogen.

Większość linii somaklonalnych i podwojonych haploidów wykazała znaczną poprawę odporności na badany patogen. Dla wybranych genotypów zaobserwowano niskie porażenie przez *P. nodorum*. Jedna linia podwojonych haploidów: D-62 (Panteon x Meloman) oraz cztery linie somaklonalne: S-43 (Borowik x Cyrkon), S-66 (Tomko x Meloman), S-55 (Cyrkon x Borwo) i S-63 (Meloman x Panteon) wykazały wysoką odporność na septoriozę liści i plew w warunkach polowych i warunkach kontrolowanego środowiska. Po przeprowadzeniu analizy statystycznej wykazano statystycznie istotną korelację między niewrażliwością badanych linii pszenżyta ozimego na efektor białkowy SnTox3 a odpornością roślin na septoriozę liści i plew zarówno w warunkach polowych jak i w warunkach kontrolowanego środowiska.

Na podstawie badań wykazano, że zmienność podwojonych haploidów i zmienność somaklonalna może być stosowana jako dodatkowe źródło odporności pszenżyta ozimego na patogeny. Test przesiewowy z użyciem efektora białkowego SnTox3 umożliwi hodowcom wytypowanie genotypów o podwyższonej odporności na septoriozę liści i plew. Otrzymane wyniki dowodzą, że metody biotechnologiczne mogą być skutecznie stosowane w hodowli odpornościowej pszenżyta ozimego i mogą być zalecane do stosowania w komercyjnych programach hodowlanych.

**Słowa kluczowe:** *Parastagonospora nodorum*, odporność, linie somaklonalne, linie podwojonych haploidów, efektor białkowy, pszenżyto.

**Screening of winter triticale and wheat genotypes with increased resistance to *Septoria nodorum* blotch (*Parastagonospora nodorum*) using methods of biotechnology.**

**ABSTRACT**

One of the great challenges for food security in the 21st century is to improve yield stability through the development of abiotic factors resistant crops. Modern crops are more productive but susceptible to pests and diseases, there is necessity to spray repeatedly with pesticides. Chemical protection with fungicides is effective but not economically justified and can be damaging to the environment. *Parastagonospora nodorum*, the causal agent of *Stagonospora nodorum* blotch (SNB) is one of the destructive pathogens of triticale worldwide. SNB on average causes yield losses of 31- 50% largely attributable to kernel weight reduction. Conventional methods of breeding for resistance can be supported by techniques of biotechnology, like: somatic embryogenesis and androgenesis. Therefore, an effort was undertaken to compare variation in *P. nodorum* resistance among winter triticale somaclones, doubled haploids and conventional cultivars. For the experiments ten isolates of *P. nodorum* with diverse pathogenicity were selected. We have evaluated seven triticale commercial cultivars (Algozo, Borwo, Borowik, Cyrkon, Fredro, Meloman, Tomko, Panteon, Pigmej), doubled haploid and somaclonal lines produced from parents cultivars. The tests were conducted under controlled growth conditions (seedlings) and under field conditions in 2018 - 2020. In both types of environments percentage of leaf area covered by necrosis was scored on a scale, where 100% – susceptible, 0% – resistant, using ImageJ and on 9° scale, where 1 - extremely susceptible plant, 9 - completely resistant plant. Additionally, the sensitivity test to SnTox3 necrotrophic effector was performed. The identification of triticale lines lacking sensitivity to SnTox3 necrotrophic effector is a promising way for increasing resistance among cultivars to this economically important pathogen.

Most of the somaclonal and doubled haploid lines produced from commercial triticale cultivars showed significantly improved resistance to the pathogen in question. Some of the genotypes showed low leaf infection, for triticale doubled haploid one line D-62 produced from F<sub>1</sub> plants of Panteon x Meloman and four somaclonal lines S-43 (Borowik x Cyrkon), S-66 (Tomko x Meloman), S-55 (Cyrkon x Borwo) i S-63 (Meloman x Panteon). A correlation of triticale susceptibility to *P. nodorum* with sensitivity to SnTox3 was observed at the seedling and adult plant stage. We have demonstrated that doubled haploid and somaclonal variation might be used as an additional source of triticale resistance to the pathogen. Besides, a simple screening test using SnTox3 necrotrophic effector combined with simple greenhouse disease evaluation enables breeders to select lines that are more resistant to the disease. The reported results prove that biotechnological methods may effectively be used in breeding for disease resistance of triticale to fungal necrotrophic pathogens and it could be recommended to use in commercial breeding programs.

**Key words:** *Parastagonospora nodorum*, resistance, somaclonal lines, doubled haploid lines, necrotrophic effector, triticale (-) mgr Lidia Anna Kowalska