

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.lublin.pl)

dr inż. Sylwia Sowa

mgr 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 Warchoń

Instytut Fizjologii Roślin, PAN, Kraków



Lp.	Cele projektu:	Czy cel został zrealizowany
1	Kompleksowa ocena odporności polskich odmian i materiałów hodowlanych owsa na choroby grzybowe wywoływane przez <i>P. coronata</i> , <i>P. graminis</i> oraz <i>B. graminis</i>	TAK
2	Opracowanie markerów molekularnych dla genów odporności na rdzę koronową <i>Pc51</i> i <i>Pc101</i>	TAK
3	Analiza porównawcza transkryptomu linii bliskoizogenicznych <i>Pc39/pc39</i> po infekcji <i>P. coronata</i>	TAK
4	Ocena zwartości związków o potencjale antyoksydacyjnym w liniach bliskoizogenicznych <i>Pc39/pc39</i>	TAK



Materiał i metody

Temat badawczy 1

Materiał:

- 500 odmian polskich i zagranicznych oraz polskich linii hodowlanych pochodzących z HR DANKO, HR Strzelce oraz MHR Polanowice
- Scharakteryzowane pod względem wirulencji izolaty *Puccinia coronata*, *Puccinia graminis*, *Blumeria graminis*

Metody:

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

Temat badawczy 2

Materiał:

- populacje mapujące F₃:
634 (Pc51U x Kasztan), 635 (Pc51U x Bingo),
848 (Kasztan x Pc101), 851 (Kasztan x Pc101)
- populacja F₆ Kasztan × Pc60

Metody:

- Klasyczny PCR
- Real-time PCR

Temat badawczy 3

Materiał:

- Linie bliskoizogeniczne z genem *Pc39/pc39*

Metody:

- Analiza DEG (differentially expressed genes)

Temat badawczy 4

Materiał:

- Linie bliskoizogeniczne z genem *Pc39/pc39*

Metody:

- Ocena zawartości związków fenolowych, hormonów: kwasów: salicylowego, jasmonowego i abscysynowego, całkowitej aktywności antyoksydacyjnej metodą DPPH, aktywności enzymów antyoksydacyjnych: katalazy, peroksydazy i dysmutazy ponadtlenkowej, zawartości białka

Temat badawczy 1
**Kompleksowa ocena odporności na choroby grzybowe odmian i linii *A. sativa*,
genotypów *A. sterilis* i *A. byzantina***

- Kompleksowa ocena odporności polskich odmian i materiałów hodowlanych owsa zwyczajnego *A. sativa* na choroby grzybowe wywoływane przez *P. coronata*, *P. graminis* oraz *B. graminis*.

Wyniki

Na podstawie profilowania wirulencji izolatów wyprowadzonych z populacji poszczególnych patogenicznych grzybów wyselekcjonowano 18 izolatów (9 – *Pc*, 5 – *Pg* i 4 – *Bg*) o spectrach wirulencji reprezentatywnych dla obecnie występujących populacji, a jednocześnie umożliwiających postulowanie obecności konkretnych genów odporności R w badanych liniach i odmianach owsa. W sumie dokonano odczytów porażenia dla 2500 roślin i 45 000 fragmentów liści.

Wyselekcjonowane izolaty *P. coronata*, *P. graminis* i *B. graminis* zostały wykorzystane do charakterystyki odporności odmian i linii hodowlanych będących przedmiotem analiz w zadaniu nr 30 realizowanym w latach 2014-2020. W zestawie 500 obiektów znajdowały się odmiany polskie i zagraniczne oraz linie hodowlane. Materiały te zostały wówczas wybrane do analiz zróżnicowania genetycznego w oparciu o technologię DArTseq i reprezentowały pulę genetyczną wykorzystywaną w ówczesnym czasie w hodowli owsa. Niektóre z badanych linii zostały zgłoszone do badań rejestrowych COBORU, a niektóre stały się odmianami.

Wnioski:

1. Analizując odporność 500 badanych obiektów na *P. coronata* aż 198 z nich wykazało odporność na co najmniej jeden izolat.
2. Tylko jedna badana odmiana (Possum) posiadała niezidentyfikowaną odporność na wszystkie testowane izolaty *Pc*. Linii, które posiadały odporność przełamowaną zaledwie przez jeden izolat było 10, w tym cztery linie STH (3 x *Pc68*, 1 x *Pc?*).
3. Odporność na co najmniej jeden z testowanych izolatów *P. graminis* stwierdzono u 94 obiektów.
4. Odporność na wszystkie testowane izolaty *Pg* stwierdzono u 9 odmian i linii (odmiany australijskie – Possum i Quoll oraz amerykańskie: TAM312, HiFi i Gehl oraz cztery linie pochodzące ze Strzelec).
5. Analizując odporność badanych obiektów na *B. graminis* stwierdzono, że 57 z nich prezentuje odporność na co najmniej jeden izolat *Bg*.
6. Cztery badane odmiany i linie posiadały odporność na wszystkie testowane izolaty *Pm* (*Pm7*) (Canyon, 2 linie STH i 1 MHR).
7. Po przeanalizowaniu reakcji 500 badanych linii i odmian na porażenie 18 izolatami *P. coronata*, *P. graminis* i *B. graminis* u czterech stwierdzono odporność na co najmniej jeden z izolatów każdego gatunku grzyba (2 linie CHD i 2 linie STH).

Tab. 1. Izolaty *Puccinia coronata* 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> _230 2. <i>Pc</i> _257 3. <i>Pc</i> _241 4. <i>Pc</i> _94(63) 5. <i>Pc</i> _56 6. <i>Pc</i> _94_1/4 7. <i>Pc</i> _58 St18/5 8. <i>Pc</i> _3_2 9. <i>Pc</i> _P3_2/9
<i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>avenae</i>	<i>Pg</i>	1. <i>Pg</i> _S_18/3 2. <i>Pg</i> _K_18/1 3. <i>Pg</i> _Cz_18/3 4. <i>Pg</i> _S18/2 5. <i>Pg</i> _Ozarów 18
<i>Blumeria graminis</i> f. sp. <i>avenae</i>	<i>Bg</i>	1. <i>Pm</i> _Cz_17/5a 2. <i>Pm</i> _K_18.2 3. <i>Pm</i> _AberT/5 4. <i>Pm</i> _Pol_18.2

Temat badawczy 2
Opracowanie selekcyjnych markerów molekularnych dla genów odporności na rdzę koronową *Pc51* i *Pc101* w oparciu o analizy genomu

- Określenie fenotypu *Pc51/pc51* oraz *Pc101/pc101* mieszańców F₂ na podstawie segregacji pokolenia F₃.
- Opracowanie selekcyjnych markerów molekularnych umożliwiających identyfikację genów odporności na rdzę koronową *Pc51* i *Pc101*.
- Kontynuacja rozmnożeń materiałów do planowanej analizy transkryptomicznej genu *Pc60* oraz mieszańców z genami *Pc68* oraz *Pc91* do opracowania markerów dla tych genów.

Wyniki

W teście żywiciel - patogen na podstawie segregacji potomstwa w pokoleniu F₃ zostały określone genotypy 300 roślin F₂ reprezentujących populacje z segregującym genem *Pc51*: 634 (*Pc51U* x Kasztan) i 635 (*Pc51U* x Bingo) oraz 300 roślin reprezentujących populacje z segregującym genem *Pc101*: 848 (Kasztan x *Pc101*) i 851 (Kasztan x *Pc101*) (tab.2). Zaobserwowany stosunek rozszczepień odpowiadał dziedziczeniu monogenicznemu 1:2:1, co potwierdzono testem Chi².

Tab. 2. Segregacja pokolenia mieszańców F₃ na podstawie oceny linii F₃ pod względem odporności warunkowanej genem *Pc59*

Populacja	Kombinacja mieszańcowa	Fenotyp F ₂ z testów F ₃			Suma testowanych linii F ₂	chi ²	P-value
		Odporna	Porażona	Heterozygota			
634	<i>Pc51U</i> x Kasztan	26	34	53	113	0,736	0,69
635	<i>Pc51U</i> x Bingo	43	51	93	187	0,343	0,84
848	Kasztan x <i>Pc101</i>	42	40	72	154	0,349	0,84
851	Kasztan x <i>Pc101</i>	37	38	71	146	0,061	0,97
Suma					600		

Genotypowaniu metodą DArTseq poddano 82 linie reprezentujące populacje mapujące F₂ z segregującym genem *Pc51* oraz 82 linie F₂ z segregującym genem *Pc101*, a także formy rodzicielskie oraz zestaw 20 linii referencyjnych z genami *Pc*.

Odczytów typu silicoDArT otrzymano 37401, zaś DArTseq – 73234. Dane poddano filtrowaniu z zastosowaniem formuł umożliwiających określenie odległości markera od genu. Po porównaniu sekwencji z genomami owsa *A. sativa* Sang i Bingo wybrano po 4 markery zlokalizowane odpowiednio na chromosomach 1D (*Pc51*) i 2D (*Pc101*).

Tab. 3. Sekwencje wyselekcjonowanych markerów DArTseq

Lp.	Gen	Sekwencja DArTseq	Pozycja SNP	Sekwencja 5'-3'
1	<i>Pc51</i>	5439210	56:C>T	TGCAGGAACAGAGAGACCAC T AGCGAGCAGTCACTGGCAGAAAGTCAAGCCGTATACCATCGCAATCATA
2	<i>Pc51</i>	5444322	33:G>C	TGCAGACAAC T ACCTCATCAACTGCGGCTCCAC GGC CGACGCCACCGTCGG G CAGAGGGTCTTCGCGGC
3	<i>Pc51</i>	37036821	39: A>C	CTGCAGGTGCTCGTGTGGGAGTTCGCCTTCTTCCGCCAAG A GGAGCATTGCGCGGTGTCCTCGGCCAGC
4	<i>Pc51</i>	20615043	63:T>G	TGCAGGAGACGCCGACCCAGTGGCAGAAGGACGTGCCGGTCCAGTTGTCGGCGAGGACGCCGATAGGGT
5	<i>Pc101</i>	10581793	8:G>A	TGCAGGGA G GAGCAGATCCACCATGGTTAGTCAGCACACAGTTATGCTCAACTTTTCTTCTTCGGC
6	<i>Pc101</i>	16619087	10:T>G	TGCAGGTCGC T CTCCTCCGTGATGCCAGCGCAGATGCCAGCTCCTGGAGGTGGGGGAACACGTCTGGG
7	<i>Pc101</i>	13752122	16:A>C	TGCAGGA T GCGGCAGCATGAGCCGACCGCACCGCGGCACCGTCAGTACCG
8	<i>Pc101</i>	77980286	45:G>A	TGCAGGCAGCACTATGTGCGCGCAAAGCGCCTCGATCTGTCTGG A ACCTGATGCCTGCCGTGCCTCC

Do każdej sekwencji zaprojektowano około 20 par starterów. W sumie do identyfikacji markerów dla genu *Pc51* wykorzystano **88 kombinacji starterów**, zaś *Pc101* – **120**.

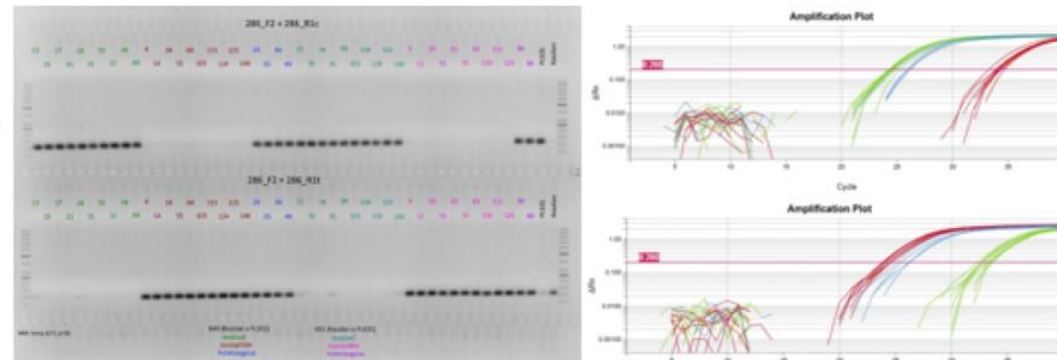
Temat badawczy 2

Opracowanie selekcyjnych markerów molekularnych dla genów odporności na rdzę koronową *Pc51* i *Pc101* w oparciu o analizy genomu

Pc51 Dla sześciu wybranych par starterów zaprojektowanych do sekwencji 5439210, 5444322, 37036821 uzyskano 100% lub niemal 100% zgodność segregacji markera z genotypem. Poniżej przedstawiono efekt klasycznej reakcji PCR i elektroforegram produktów uzyskanych z parą starterów do sekwencji 5439210 (fot. 1) oraz tą samą reakcją wykonaną metodą real-time (rys. 1).

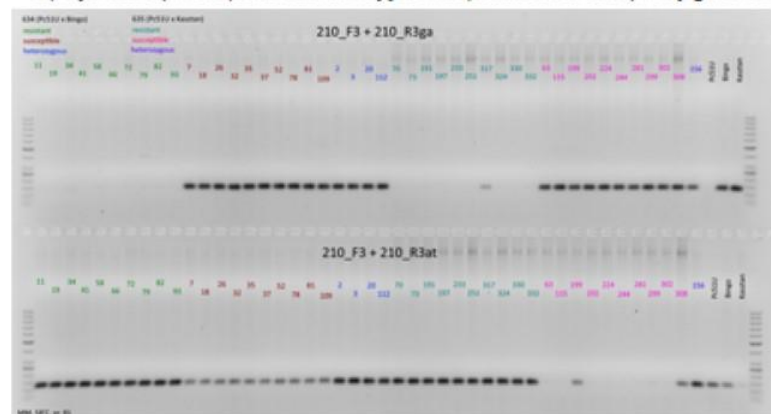
Pc101 Dla ośmiu par starterów zaprojektowanych do każdej z wybranych sekwencji DArTseq uzyskano 100% lub niemal 100% zgodność segregacji markera z genotypem. Poniżej jeden z markerów (fot. 2, rys. 2)

Fot. 2. Elektroforegram przedstawiający efekt amplifikacji uzyskany ze starterami zaprojektowanymi w oparciu o sekwencję DArTseq 77980286 do identyfikacji genu *Pc101*.

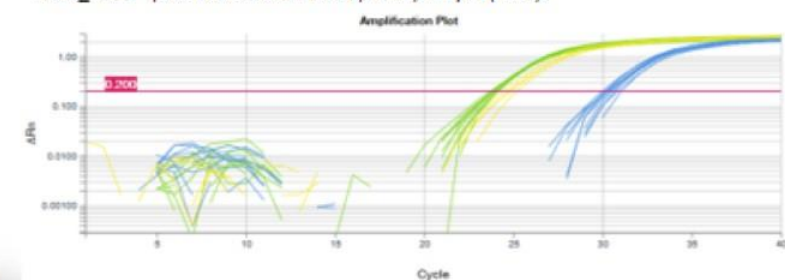


Rys. 2. Wykres amplifikacji real-time dla populacji 848 (Kasztan x *Pc101*) z parą starterów 286_F2 + 286_R1c - produkt wielkości 97 bp dla odpornych (*Pc101*) (górze), 286_F2 + 286_R1t dla porażonych (*pc101*) (dół).

Fot. 1. Elektroforegram przedstawiający efekt amplifikacji uzyskany ze starterami zaprojektowanymi w oparciu o sekwencję DArTseq 5439210 do identyfikacji genu *Pc51*.



Rys. 1. Wykres amplifikacji real-time dla populacji 634 (*Pc51U* x Bingo) z parą starterów 210_F3 + 210_R3aa - produkt wielkości 103 bp u odpornych (*Pc51*).



Wnioski

1. Zidentyfikowane sekwencje lokalizowały się na chromosomach 1D (*Pc51*) oraz 2D (*Pc101*) wersji v.2 genomu owsa odmiany Sang i genomu odmiany Bingo.
2. Opracowano trzy kombinacje starterów umożliwiające identyfikację alleli genu *Pc51/pc51* oraz cztery kombinacje starterów identyfikujące allele *Pc101/pc101*.
3. Klasyczne markery PCR zaprojektowane do identyfikacji mutacji punktowych są bardzo pracochłonne w użyciu i trudne do interpretacji. Poszukiwanie alternatyw dla klasycznego PCR jest wskazane.
4. Wykorzystanie zaprojektowanych starterów - tylko w przypadku amplifikacji jednego fragmentu DNA - w reakcji real-time PCR ułatwia genotypowanie.

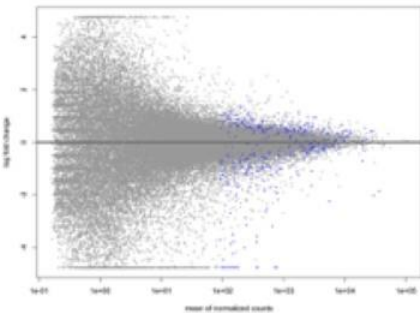
Temat badawczy 3

Analiza porównawcza transkryptomu linii bliskoizogenicznych *Pc39/pc39* po infekcji *P. coronata*

- Identyfikacja transkryptów różnicujących linie bliskoizogeniczne *Pc39/pc39* po infekcji *P. coronata*

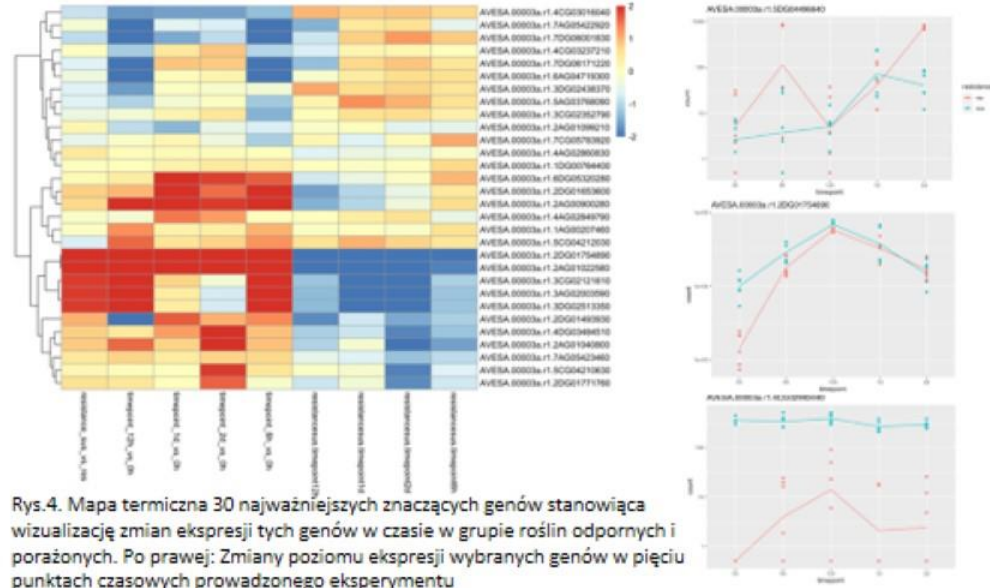
Wyniki

W pierwszym etapie obróbki danych wszystkie, uzyskane w analizie RNAseq przeprowadzonej w 2022 r., transkrypty zmapowano do genomu owsa i wykonano anotacje wykorzystując m.in. bazę UniProt oraz anotacje transkryptomu odmiany Bingo. W kolejnym etapie wygenerowano wykres MA (Blanda – Altmana), aby zwizualizować rozmieszczenie znaczących genów pomiędzy dwiema próbkami charakteryzującymi się odpornością lub podatnością (rys.3).



Rys.3. Wykres MA (Blanda – Altmana) przedstawiający rozmieszczenie znaczących genów pomiędzy roślinami odpornymi i wrażliwymi. Wykres przedstawia log-krotność zmiany dla każdego genu w porównaniu z jego średnią ekspresją we wszystkich próbkach w dwóch porównywanych warunkach.

W następnym etapie przeprowadzono wybór modelu analizy. Jako pierwszy zastosowano model uwzględniający odporność + punkt czasowy + zmiany odporności w czasie. Aby uzyskać lepszy wgląd we wzorce ekspresji genów, stworzono mapę cieplną 30 najważniejszych genów (rys. 4)



Rys.4. Mapa termiczna 30 najważniejszych znaczących genów stanowiąca wizualizację zmian ekspresji tych genów w czasie w grupie roślin odpornych i porażonych. Po prawej: Zmiany poziomu ekspresji wybranych genów w pięciu punktach czasowych prowadzonego eksperymentu

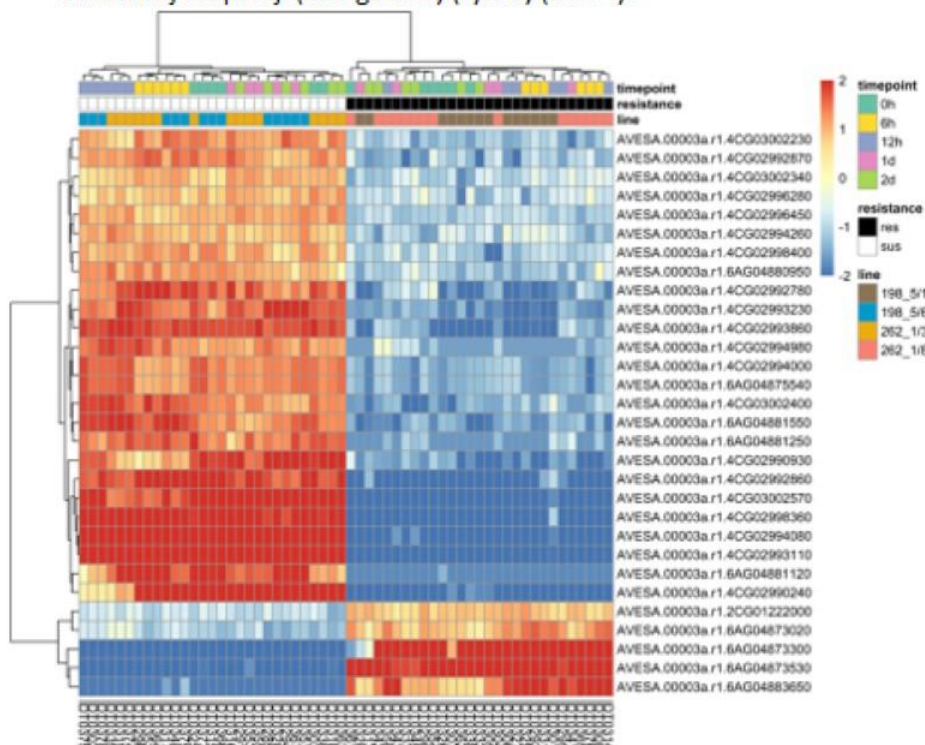
Stosując model pierwszy, uwzględniający zarówno efekty główne, jak i czas interakcji, uzyskano kompleksowy obraz wpływu tych czynników na ekspresję genów. Ogółem były to 52 znaczące geny (wartość $p < 0,05$, bezwzględna $|lfc| > 1$), z których 6 uległo zwiększeniu, a pozostałe obniżeniu. Stosując model drugi, w którym uwzględniono odporność i czas, liczba wszystkich znaczących genów wynosiła 1325. Następnie zidentyfikowano geny o zróżnicowanej ekspresji, w tym geny regulowane w górę i w dół, których było odpowiednio 190 i 186 .

Temat badawczy 3

Analiza porównawcza transkryptomu linii bliskoizogenicznych *Pc39/pc39* po infekcji *P. coronata*

Wyniki

W modelu trzecim w analizie różnicowej ekspresji genów brano pod uwagę jedynie „odporność”, bez uwzględnienia czynnika „czasu” i ich interakcji. Podobnie jak w przypadku dwóch poprzednich modeli zidentyfikowano geny o zróżnicowanej ekspresji, czyli geny o zwiększonej ekspresji (138 genów) i obniżonej ekspresji (105 genów) (rys. 5) (tab. 4).



Rys.5. Mapa termiczna przedstawiająca różnice w ekspresji genów pomiędzy liniami odpornymi i wrażliwymi oszacowane według modelu trzeciego

Tab. 4. Znaczące geny zidentyfikowane w analizie DEG przy zastosowaniu modelu pierwszego z zaznaczonymi genami, które zidentyfikowano równocześnie w modelu drugim (pomarańczowy)

Lp.	ID znaczących genów	log2 fold Change Przyrost/Spadek	P-value adjustment	CHROMOSOM	CDS START	CDS END	CDS STRAND	Rodzaj transkryptu	Opis genu
1	AVESA.00003a.r1.1AG00124950	-1.324	0.018	chr1A	232704102	232704439	-	predicted_gene	HCCOXD-type acyl-transferase family protein
2	AVESA.00003a.r1.1AG00278040	6.825	0.034	chr1A	422282454	422282895	-	predicted_gene	Acid beta-fructofuranosidase, Glycosyl hydrolases family 32 protein
3	AVESA.00003a.r1.1AG00302159	-1.127	0.001	chr1A	468449981	468450184	-	predicted_gene	Unknown protein
4	AVESA.00003a.r1.1CG00382358	-4.467	0.001	chr3C	38129842	381299277	-	predicted_gene	Bovine Birk type trypsin inhibitor
5	AVESA.00003a.r1.1AG01022780	-1.858	0.000	chr2A	242766882	242767952	-	plastid_related	Photosystem II 10 kDa polypeptide, chloroplast; basic helix-loop helix (bHLH) DNA binding superfamily protein
6	AVESA.00003a.r1.1AG01048000	-1.501	0.000	chr2A	270438471	270438586	-	predicted_gene	Unknown protein
7	AVESA.00003a.r1.1AG01090800	-5.572	0.013	chr2A	342674630	342675050	-	predicted_gene	Chitinase family protein
8	AVESA.00003a.r1.1CG01220548	-5.863	0.021	chr2C	34176083	34176226	-	predicted_gene	Calcium-dependent phosphotransferase superfamily protein

Wnioski:

1. Transkrypty zidentyfikowane w każdym z trzech rozpatrywanych modeli porównano do siebie. Spośród 52 transkryptów i odpowiadających im białek zidentyfikowanych w modelu pierwszym tylko dwa pojawiły się w wynikach każdej analizy. Pierwszym z nich był AVESA.00003a.r1.4CG02993440 o aktywności kinazy, którego ekspresja obniżyła się 6 krotnie pod wpływem porażenia *P. coronata*, drugim AVESA.00003a.r1.5DG04496640 kodujący czynnik transkrypcyjny WRKY, dla którego stwierdzono 3,5 krotny spadek ekspresji.
2. Siedem transkryptów/białek zostało uznanych za znaczące nie tylko w analizie pierwszej, ale również w analizie drugiej.
3. Najlepsze rezultaty uzyskano stosując model trzeci, który różnicował badane próby na dwie pule, z genem *Pc39* lub z jego recesywnym allelem. W tym modelu zidentyfikowano transkrypty zlokalizowane głównie na niewielkim obszarze chromosomu 4C oraz na porównywalnym wielkościowo obszarze chromosomu 6A. Pierwsza lokalizacja odpowiada położeniu locus genu *Pc39*.

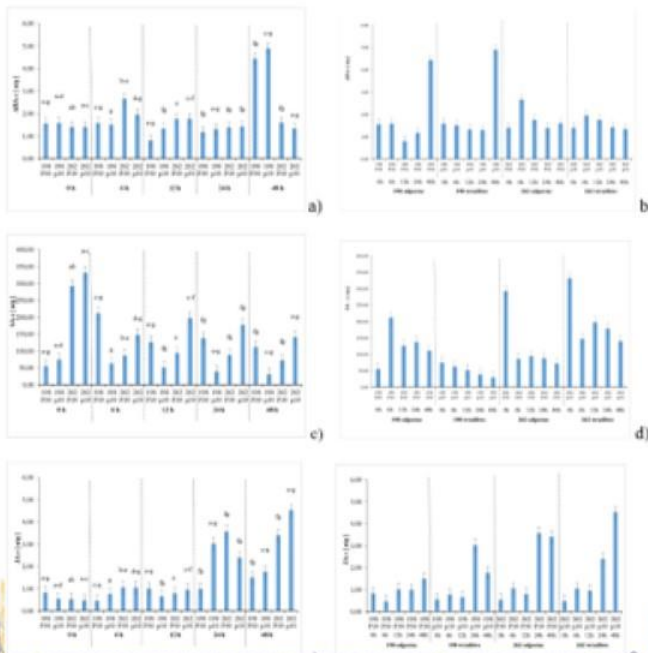
Temat badawczy 4

Ocena zawartości związków o potencjale antyoksydacyjnym w liniach bliskoizogenicznych *Pc39/pc39*

Wyniki

Materiał roślinny pochodził z testu żywiciel – patogen, założonego na siewkach w roku 2022. Celem tego zdania było dokonanie oceny zmian w zawartości związków fenolowych i związków o aktywności antyoksydacyjnej w liniach bliskoizogenicznych *Pc39/pc39* 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 ponadtlenkowego (SOD), katalazy (KAT) i peroksydazy (POD), a także poziom hormonów: kwasu abscysynowego, salicylowego i jasmonowego.

Tab. 6. Zawartość hormonów: kwasów abscysynowego (ABA) [ng/g] (a,b), salicylowego (SA) [ng/g] (c,d) i jasmonowego (JA) [ng/g] (e,f) w liściach owsa (*Avena sativa* L.) w zależności od linii (198 i 262), genu odporności (P39 i p39) oraz czasu po porażeniu (0h, 6h, 12h, 24h i 48h). Wartości średnie, n = 4n ± SE.



Wnioski:

1. Zróżnicowaną zawartość wszystkich badanych parametrów odnotowano w liściach siewek owsa linii 262 i 198. Różnice te były często wyższe aniżeli pomiędzy liniami z genem *Pc39* lub *pc39*.
2. Wyższe zawartości wolnych związków fenolowych i związanych ze ścianą fenoli obserwowano dla genu *Pc39* u obydwu badanych linii po 6 i 12 godzinach od inokulacji *P. coronata*. Natomiast po 48 godzinach infekcji wyższą zawartość fenoli obserwowano dla allelu recesywnego genu *p39*.
3. Aktywność antyoksydacyjna liści owsa po 6 godzinach od inokulacji *P. coronata* była istotnie wyższa u linii z genem *p39* w porównaniu do *Pc39*.
4. Wszystkie linie owsa charakteryzowały się wzrostem aktywności katalazy, peroksydazy i dysmutazy ponadtlenkowej porównując moment porażenia i stan po 48 godzinach. W przypadku peroksydazy ten wzrost był istotnie wyższy w liniach z genem *Pc39*.
5. W obu liniach z genem *Pc39* w 6 godzinie po porażeniu zauważyć można było średnio dwukrotny wzrost zawartości kwasu abscysynowego.
6. Analizując poziom kwasu salicylowego zaobserwowano, że zarówno w obecności genu *Pc39*, jak i *pc39* następował stopniowy wzrost zawartości SA w trakcie trwania eksperymentu i w 48h od porażenia zawartość tego hormonu była ponad dwukrotnie wyższa niż przed porażeniem obu linii.
7. Porównując zmiany w poziomie kwasu jasmonowego zachodzące w czasie w liniach z genem *Pc39* zaobserwowano największy wzrost (5 x) zawartości hormonu po 48h od inokulacji, z kolei w liniach z genem *pc39* po 24 godzinach wzrost jest niemal 10 krotny.

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 polskich odmian i linii hodowlanych <i>A. sativa</i> poddanych kompleksowej ocenie odporności na choroby	500	500	100
temat badawczy 2				
2.1	Liczba linii F ₃ , dla których zostanie określony fenotyp <i>Pc51/pc51</i>	300	300	100
2.2	Liczba linii F ₂ , dla których zostanie określony fenotyp <i>Pc101/pc101</i>	300	300	100
2.3	Liczba sekwencji sprzężonych z genem <i>Pc51</i> dla których opracowane zostaną startery specyficzne	4	4	100
2.4	Liczba sekwencji sprzężonych z genem <i>Pc101</i> dla których opracowane zostaną startery specyficzne	4	4	100
temat badawczy 3				
3.1	Liczba analiz mających na celu identyfikację DEG	1	1	100
temat badawczy 4				
4.1	Liczba próbek dla których zostaną przeprowadzone analizy biochemiczne	40	40	100
4.2	Liczba parametrów ocenianych dla każdej analizowanej próby	10	10	100
			ŚREDNIA	100
			% REALIZACJI ZADANIA	100

DONIESIENIE KONFERENCYJNE

Edyta Paczos-Grzeda*, Sylwia Sowa, Joanna Lech, Magdalena Tomczyńska, Aneta Koroluk 2023. Identification and chromosomal localisation of SNP markers for the oat crown rust resistance gene *Pc59*, 18th EWAC The European Cereals Genetics Co-operative Conference, 6 November 2023, Wernigerode, Germany, p.13.

