

Badania podstawowe na rzecz Postępu Biologicznego w Produkcji Roślinnej w latach 2021-2027
Sprawozdanie z realizacji zadania w 2022 roku

Temat PB2/ 3-1-00-3-01

**Septorioza paskowana liści pszenicy (*Zymoseptoria tritici*): struktura populacji grzyba,
identyfikacja loci odporności w pszenicy oraz wprowadzenie efektywnych genów
odporności do materiałów hodowlanych**

Kierownik Zadania: dr hab. Paweł Czembor, prof. Instytutu; p.czembor@ihar.edu.pl

Wykonawcy:
Dariusz Mańkowski, dr hab., prof. Instytutu
Magdalena Radecka-Janusik, dr
Urszula Piechota, dr
Dominika Piaskowska, mgr
Bogusław Łapiński, dr
Magdalena Pałuba, mgr
Janina Włoszczewska
Jolanta Łopata

Zakład Biologii Stosowanej, IHAR-PIB

Cele

1. Analiza struktury populacji (w tym zdolności chorobotwórczych) grzyba *Zymoseptoria tritici* na pszenicy

Cel szczegółowy na rok 2023: Analiza wirulencji izolatów grzyba *Zymoseptoria tritici* wyprowadzonych z próbek porażonych liści zebranych w roku 2023 – **cel osiągnięto w 100%**

2. Identyfikacja loci odporności na septoriozę paskowaną liści (STB) wśród odmian miejscowych i historycznych pszenicy

Cel szczegółowy na rok 2023: Zakażenie i ocena odporności drugiego doświadczenia polowego oraz założenie trzeciego doświadczenia polowego – **cel osiągnięto w 100%**

3. Wprowadzenie efektywnych loci odporności na STB do materiałów hodowlanych pszenicy metodą krzyżowań wspomaganych markerami molekularnymi

Cel szczegółowy na rok 2023: analiza molekularna markerów specyficznych dla wprowadzanych genów odporności (FS) oraz tła genetycznego (BS) dla F_1BC_2 oraz uzyskanie F_1BC_3 – **cel osiągnięto w 100%**

Materiały i metody

TEMAT BADAWCZY 1: Analiza wirulencji izolatów *Z. tritici*

1. Zbiór liści pszenicy z objawami STB w różnych miejscowościach w Polsce
2. Uzyskanie jednopiknidialnych izolatów *Z. tritici*
3. Siew zestawu różnicującego – 23 obiekty ze znanymi loci odporności na STB + 2 podatne wzorce
4. Zakażenie – oprysk zawiesiną o stężeniu ok. 15×10^6 zarodników/ml
5. Ocena – określenie procentu pokrycia powierzchni liścia nekrozą (NEC) oraz owocnikami grzyba (PYC)

TEMAT BADAWCZY 2: Mapowanie Asocjacyjne (MA): fenotypowanie reakcji na zakażenie *Z. tritici* co najmniej 188 obiektów stadium rośliny dorosłej – zakażenie i ocena odporności drugiego doświadczenia polowego oraz założenie trzeciego doświadczenia polowego

1. Zakażenie – oprysk mieszaniną izolatów (IPO92006, IPO86036, St1-03 i St20-43-1) – stężenie ok. 15×10^6 zarodników/ml
2. Ocena – określenie procentu pokrycia powierzchni liścia nekrozą (NEC) oraz owocnikami grzyba (PYC)
3. Założenie kolejnego doświadczenia polowego

TEMAT BADAWCZY 3: Marker Asisted Backcrossing (MAB): analiza molekularna markerów specyficznych dla wprowadzanych genów odporności (FS) oraz tła genetycznego (BS) dla F_1BC_2 oraz uzyskanie F_1BC_3

1. Izolacja DNA z siewek
2. Analiza polimorfizmu markerów SSR i SNP powiązanych z genami odporności
3. Kontrola tła genetycznego w oparciu o genotypowanie na platformie DArTseq
4. Selekcja i wybór roślin do krzyżowań
5. Krzyżowania i uzyskanie pokolenia F_1BC_3

Wyniki - Temat badawczy 1 (Analiza wirulencji izolatów *Z. tritici*)

Tabela 1. Średni procent pokrycia powierzchni liścia nekrozą (%NEC) i piknidiami (%PYC) dla 11 izolatów *Z. tritici*.
Na zielono zaznaczono obiekty najbardziej odporne, na czerwono obiekty najbardziej podatne.

%NEC	St-2023-3	St-2023-4	St-2023-5	St-2023-6	St-2023-7	St-2023-8	St-2023-1	St-2023-9	St-2023-2	St-2023-10	St-2023-11
M3 synthetic (W-7976)	0,5	0,7	0,4	1,0	1,7	1,4	0,6	3,3	1,3	1,1	1,3
Cs Synthetic (6x)7D	1,8	4,6	2,6	4,3	10,0	7,8	8,1	15,5	9,0	7,6	13,6
Salamouni	1,0	1,6	5,6	4,7	7,8	13,4	4,8	19,4	20,2	2,4	28,2
Kavkaz-K4500	2,4	45,7	1,4	12,3	11,6	6,1	6,9	11,9	15,3	10,1	20,2
TE9111	0,8	1,7	0,3	18,5	3,3	32,6	12,5	50,7	23,9	18,8	80,1
Balance	1,2	2,6	4,8	16,9	24,7	20,1	31,6	40,3	37,5	37,6	51,7
Israel493	0,8	10,0	12,0	18,9	18,1	37,7	31,0	40,1	24,9	29,5	46,2
Florett	1,2	9,8	4,1	9,1	33,4	15,5	25,6	40,8	44,4	66,8	53,3
M6 synthetic (W-7984)	0,8	18,6	7,6	2,2	35,5	38,9	56,0	16,9	12,2	79,5	40,8
Tadinia	1,4	8,1	1,4	17,1	4,5	49,3	10,8	46,0	60,7	69,4	58,9
Veranopolis	1,4	1,6	17,3	3,1	9,5	44,4	45,3	47,6	3,6	81,5	73,8
Tuareg	5,8	2,2	47,3	4,4	36,3	28,6	18,6	60,1	60,0	30,4	58,9
Liwilla	5,8	4,2	43,3	14,7	37,5	7,2	33,1	54,4	69,2	47,6	91,7
Solitar	14,7	0,8	32,4	34,0	39,0	46,3	42,3	56,2	41,9	77,2	81,4
Arina	12,0	6,8	43,4	28,7	41,8	24,2	43,7	55,8	63,4	69,7	89,3
Flame	27,7	11,4	30,5	45,8	34,8	12,8	37,2	65,2	74,9	71,4	87,0
Mazurka	2,3	14,8	9,5	44,5	38,4	55,9	32,6	52,8	82,3	69,6	90,8
Riband	38,3	24,7	27,4	33,1	45,2	37,5	49,9	33,5	60,7	66,8	85,9
Apache	20,9	5,4	63,0	44,3	51,5	42,8	49,0	85,2	67,7	87,6	92,7
Chinese Spring	25,9	19,0	45,1	42,6	48,2	43,7	51,7	77,8	84,8	84,4	94,9
Estanzuela Federal	2,5	62,7	35,4	65,0	82,5	85,4	19,5	66,7	58,6	73,4	79,8
Courtot	49,1	39,4	62,2	56,3	55,5	54,2	66,9	72,6	90,9	70,2	82,3
Bulgaria88	53,1	46,6	34,7	86,2	63,1	59,5	61,1	88,3	97,9	96,7	95,6
Begra	43,4	33,9	47,8	65,5	89,2	58,1	89,3	92,0	96,9	98,9	95,5
Taichung29	85,4	69,5	89,3	91,1	70,1	74,9	87,5	90,9	88,6	93,4	98,0

%PYC	St-2023-10	St-2023-8	St-2023-3	St-2023-7	St-2023-9	St-2023-5	St-2023-2	St-2023-6	St-2023-1	St-2023-4	St-2023-11
M3 synthetic (W-7976)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Salamouni	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,4	0,6
Cs Synthetic (6x)7D	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	1,4	0,0	0,0
Kavkaz-K4500	0,0	0,2	3,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,5
Veranopolis	0,0	0,0	0,0	0,5	1,9	0,3	2,8	0,1	0,0	0,1	0,1
Balance	0,0	0,0	0,0	1,2	0,0	0,1	0,1	1,5	0,3	2,3	1,3
TE9111	0,0	0,0	2,2	0,2	1,0	0,0	0,0	0,7	0,0	6,3	0,3
Florett	0,0	0,0	0,1	1,3	0,6	0,0	4,7	3,7	1,5	3,2	5,7
Tuareg	0,0	0,2	0,2	0,1	0,3	5,2	0,9	1,0	1,4	4,9	8,2
M6 synthetic (W-7984)	0,0	0,0	0,0	0,6	0,5	0,1	10,2	2,1	1,9	2,0	2,4
Israel493	0,0	0,1	2,0	13,9	1,7	0,4	0,0	9,0	0,2	0,6	0,2
Apache	0,0	0,3	2,5	1,7	4,5	12,6	4,1	1,2	1,2	3,1	3,8
Tadinia	0,0	0,1	1,1	0,0	1,1	0,0	13,3	1,0	0,0	10,9	17,3
Begra	0,2	0,3	0,3	0,9	3,1	6,1	1,8	11,8	0,8	11,2	8,7
Bulgaria88	0,3	0,1	5,4	5,3	10,5	0,1	3,5	10,2	7,7	8,2	9,6
Flame	0,0	0,0	7,2	0,9	1,0	7,4	9,1	10,6	10,3	10,7	6,0
Arina	1,2	1,3	4,1	1,6	3,4	13,0	7,3	8,3	1,9	16,5	14,0
Riband	4,3	1,5	1,6	12,1	2,3	13,5	10,1	2,9	10,4	4,2	19,9
Mazurka	0,0	1,7	1,7	6,2	13,4	1,5	11,1	3,8	6,9	14,2	32,0
Liwilla	1,0	0,8	3,7	8,3	0,0	14,4	7,9	15,1	1,8	22,6	24,5
Courtot	1,6	1,3	19,0	4,3	14,1	10,8	2,1	11,6	15,5	16,4	29,5
Estanzuela Federal	0,0	2,7	20,4	3,1	13,0	3,4	16,9	6,3	24,1	21,6	30,8
Solitar	5,0	4,1	3,1	10,7	11,1	28,2	6,8	13,0	34,2	29,3	18,0
Taichung29	9,4	10,6	12,4	8,7	6,5	7,9	4,9	24,4	29,6	8,2	51,4
Chinese Spring	1,5	0,9	5,5	24,9	16,7	13,9	27,0	19,9	23,8	23,9	36,2

Wyniki - Temat badawczy 1 (Analiza wirulencji izolatów *Z. tritici*)

W ramach tematu przetestowano 11 izolatów *Z. tritici* z sześciu miejscowości w Polsce.

St-2023-11 (Dębina)

najbardziej wirulentny izolat pod względem obu parametrów chorobowych
(NEC: 1,3% - 95,6%; PYC: 0% - 36,2%)

St-2023-3 (Radzików)

najmniej wirulentny izolat pod względem parametru NEC (0,5% - 53,1%)

St-2023-10 (Karzniczka)

najmniej wirulentny izolat pod względem parametru PYC (0,0% - 5,0%)

OBIEKTY ODPORNE: M3 Synthetic (*Stb16q, Stb17*), Kavkaz-K4500 (*Stb6, Stb7, Stb10, Stb12*), Salamouni (*Stb13, Stb14*), Cs Synthetic (6x)7D (*Stb5, Stb6*)

OBIEKTY PODATNE: Chinese Spring (*Stb4, Stb5, QTL – 7D*), Taichung29 (podatny wzorzec)



Piknidia z rożkami zarodników

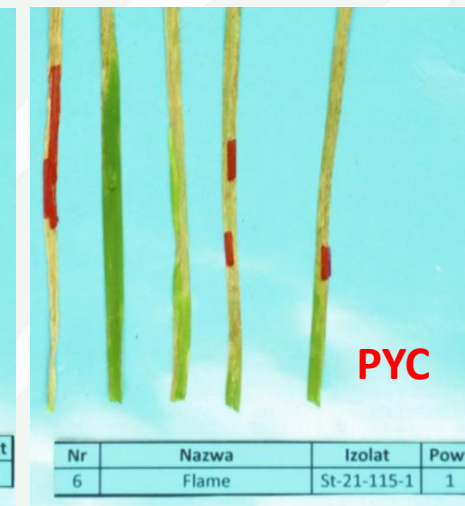
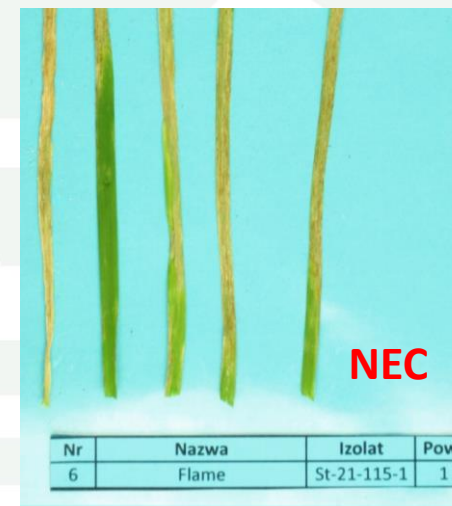
Zakażanie zestawu różnicującego



Ocena porażenia

Wnioski - Temat badawczy 1 (Analiza wirulencji izolatów *Z. tritici*)

1. Badane izolaty *Z. tritici* wykazały dużą zmienność pod względem swoich zdolności chorobotwórczych.
2. Najbardziej odporne okazały się odmiany/linie: **M3 synthetic**, Kavkaz-K4500, Salamouni i **Cs Synthetic (6x)7D**, a najbardziej podatne Taichung29 i Chinese Spring.
3. Linie/odmiany wykazujące wysoką odporność na zakażanie izolatami *Z. tritici* zebranymi w roku 2023, wykazały wysoką odporność również w poprzednich latach realizacji tematu (2021 i 2022).



Wyniki – Temat badawczy 2 (Mapowanie Asocjacyjne (MA): zakażanie i ocena odporności drugiego doświadczenia polowego oraz założenie trzeciego doświadczenia polowego)

- badane pszenice charakteryzowały się dużą zmiennością pod względem reakcji odpornościowej
- NEC: 20,5% - 98,9%
- PYC: 0% - 60,0%
- w wyniku analizy skupień otrzymano 6 klas obiektów
- liczebność klas oraz maksymalne i minimalne wartości dla obu parametrów chorobowych w poszczególnych klasach przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Liczebność klas oraz minimalne i maksymalne wartości parametrów chorobowych w poszczególnych klasach.

Klasa	Pokrycie liścia nekrozą (NEC)		Pokrycie liścia piknidiami (PYC)		Liczebność
	Minimum	Maksimum	Minimum	Maksimum	
1	46,5%	83,4%	0,0%	21,4%	54
2	20,5%	57,0%	0,1%	21,8%	29
3	76,5%	98,9%	0,0%	29,3%	86
4	52,0%	75,0%	19,0%	46,0%	16
5	36,4%	61,6%	7,4%	32,4%	8
6	78,7%	87,0%	39,3%	60,0%	5

Wnioski – Temat badawczy 2 (Mapowanie Asocjacyjne (MA): zakażenie i ocena odporności drugiego doświadczenia polowego oraz założenie trzeciego doświadczenia polowego)

1. Reakcja zestawu odmian i linii pszenicy na zakażenie mieszaniną izolatów *Z. tritici* wykazała duży zakres zmienności badanych parametrów chorobowych.
2. Zastosowanie mieszaniny izolatów o szerokim spektrum wirulencji pozwala przypuszczać, że odmiany/linie, które wykazały się silną reakcją odpornościową (klasa 2) w tegorocznym doświadczeniu posiadają w swoim genomie potencjalnie nowe loci odporności na STB.

Rośliny gotowe do zakażenia

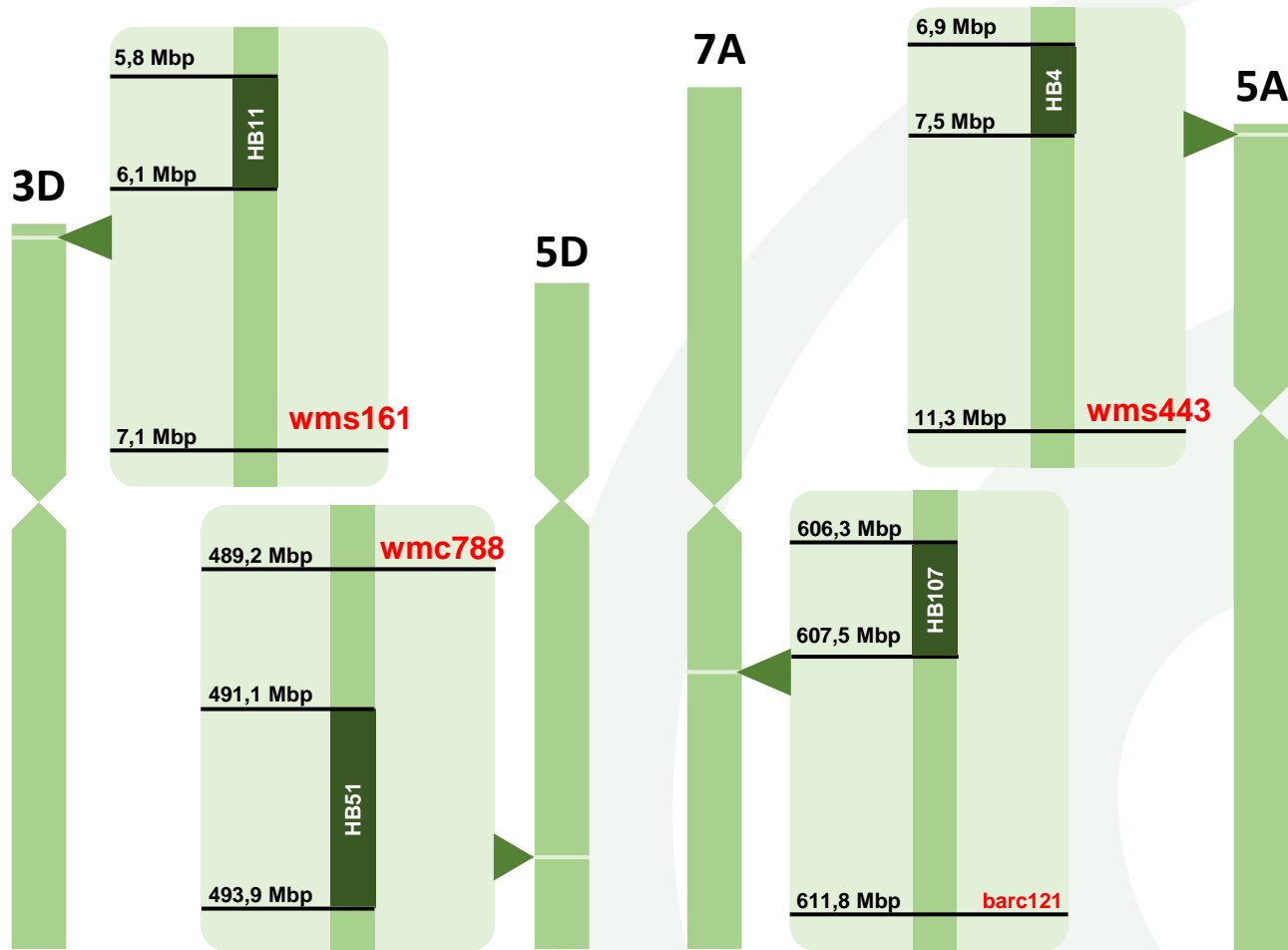
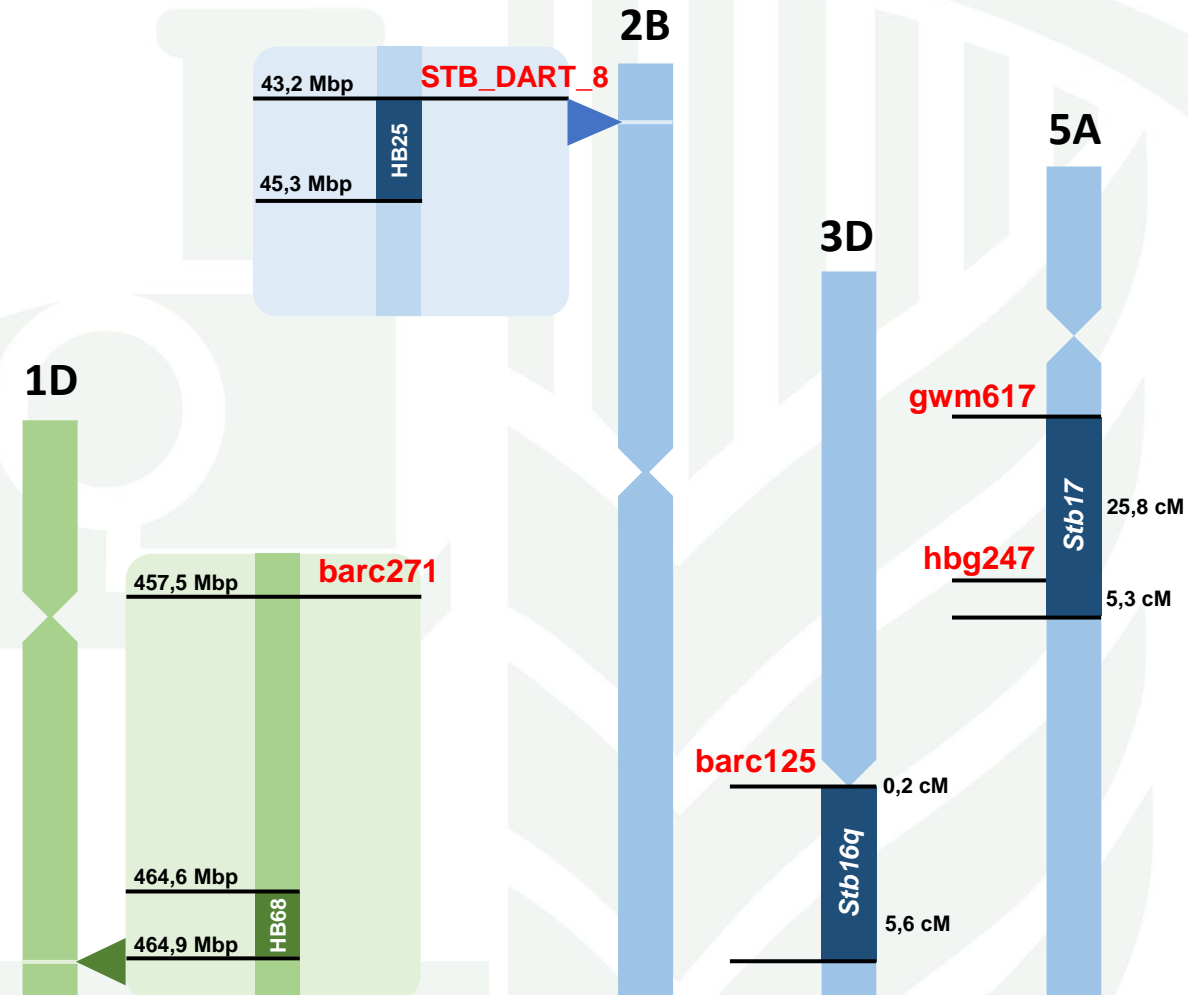


Zakażenie mieszaniną izolatów *Z. tritici*



Ocena porażenia



Temat badawczy 3 (Marker Asisted Backcrossing - F1BC2)
Mandub × Arkadia

M3 Synthetic × Patras


Rys 1. Schematy chromosomów z zaznaczonymi markerami (**czzerwona czcionka**) wykorzystanymi do typowania loci odporności na STB. Mapy chromosomów 3D i 5A dla kombinacji M3 Synthetic × Patras przygotowano na podstawie publikacji Tabib Ghaffary S.M. i in. (2012) New broad-spectrum resistance to Septoria tritici blotch derived from synthetic hexaploid wheat. Theor. Appl. Genet. 124, 125–142.

Wyniki – Temat badawczy 3 (MAB - F1BC2)

- Udział tła genetycznego rodzica wypierającego w populacji F_1BC_2 kombinacji $M \times A$ wyniósł od 45% do 87%;
- Udział tła genetycznego rodzica wypierającego w populacji F_1BC_2 kombinacji $M3 \times P$ wyniósł od 61% do 91%;
- Do dalszych etapów krzyżowań wybrano po 10 obiektów posiadających jak największą liczbę przebadanych markerów w typie rodzica dawcy (Tabela 3.);
- Wybrane obiekty skrzyżowano ponownie z rodzicami wypierającymi i uzyskano pokolenie F_1BC_3 .

Wnioski – Temat badawczy 3 (MAB - F1BC2)

1. Genotypowanie z wykorzystaniem platformy DArTseq jest szybką i skuteczną metodą kontroli tła genetycznego u pszenicy.

Tabela 3. Rośliny F_1BC_2 wybrane do dalszych etapów krzyżowań. Za pomocą „x” oznaczono markery, które w danej roślinie wskazały na obecność allelu w typie rodzica dawcy.

ID rośliny	% tła genetycznego w typie rodzica wypierającego	barc125	gwm617	hbg247	STB_DART_8
M3xP-210-18	90,0	x		x	x
M3xP-210-55	88,7	x		x	x
M3xP-210-4	88,6	x		x	x
M3xP-210-25	87,5	x		x	x
M3xP-234-18	87,4	x		x	x
M3xP-234-28	86,9	x		x	x
M3xP-244-7	86,9	x		x	x
M3xP-210-71	86,7	x		x	x
M3xP-210-43	86,6	x		x	x
M3xP-244-33	86,4	x		x	x

ID rośliny	% tła genetycznego w typie rodzica wypierającego	wms161	wmc788	barc121	wms443	barc271
MxA-87-07	55,8	x	x	x		x
MxA-197-07	86,8	x	x	x		x
MxA-21-11	58,4	x	x	x		x
MxA_195-09	76,1	x	x	x		
MxA-37-05	60,8	x	x	x		
MxA-177-03	66,8		x	x		x
MxA-197-08	72,3	x		x		x
MxA-197-05	86,5		x	x		x
MxA-87-10	58,6	x	x	x		
MxA-73-07	73,8	x	x	x		

Wykaz publikacji wyników projektu

Referat na konferencji „The EUCARPIA Cereals Section Conference” (Węgry, Segedyn 15-21.05.2023) – prezentacja wyników projektu opisanych w sprawozdaniu z roku 2022 (strony 12 – 14).



Efficiency of the molecular markers linked to the STB resistance loci in wheat

Dominika Piaskowska, Urszula Piechota, Magdalena Radecka-Janusik, Piotr Słowacki, Paweł Czembor

Plant Breeding and Acclimatization Institute – National Research Institute, Department of Applied Biology, Radzików, Poland

Dziękuję za uwagę

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin - Państwowy Instytut Badawczy

Radzików
05-870 Błonie
tel. 22 733 45 00
NIP-PL: 5290007029
REGON: 000079480
e-mail: postbox@ihar.edu.pl
www.ihar.edu.pl/

dr hab. Paweł Czembor prof. Instytutu

Zakład Biologii Stosowanej
IHAR-PIB
Radzików
05-870 Błonie
tel. 22 733 45 55
e-mail: p.czembor@ihar.edu.pl