

Badania podstawowe na rzecz Postępu Biologicznego w Produkcji Roślinnej w latach 2021-2027

Sprawozdanie z realizacji zadania w 2024 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
Aneta Kisiela
Jolanta Łopata

Zakład Biologii Stosowanej, IHAR-PIB

Przyznane środki: 366 000,00 zł

CELE ZADANIA W 2024r.:

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

Cel szczegółowy na rok 2024: Analiza wirulencji izolatów grzyba *Zymoseptoria tritici* wyprowadzonych z próbek porażonych liści zebranych w roku 2024 – **cel osiągnięto w 100%**

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

Cel szczegółowy na rok 2024: Zakażenie i ocena odporności trzeciego doświadczenia polowego, genotypowanie i rozpoczęcie analizy GWAS – **cel osiągnięto w 100%**

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

Cel szczegółowy na rok 2024: Analiza molekularna markerów specyficznych dla wprowadzanych genów odporności (FS) oraz tła genetycznego (BS) dla F_1BC_3 oraz uzyskanie F_1BC_4 – **cel osiągnięto w 100%**

Temat badawczy 4. Mapowanie odporności na STB w dwóch pszenicach syntetycznych

Cel szczegółowy na rok 2024: Zakażenie i ocena odporności pierwszego doświadczenia polowego – **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 w stadium rośliny dorosłej (trzecie doświadczenie polowe), genotypowanie oraz rozpoczęcie analizy GWAS

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. Genotypowanie na platformie DArTseq i selekcja markerów informatywnych
4. Analiza i przygotowanie do mapowania asocjacyjnego zebranych danych fenotypowych i genotypowych

TEMAT BADAWCZY 3: Marker Asisted Backcrossing (MAB): analiza molekularna markerów specyficznych dla wprowadzanych genów odporności (FS) oraz tła genetycznego (BS) dla F_1BC_3 oraz uzyskanie F_1BC_4

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_4

TEMAT BADAWCZY 4: Mapowanie odporności na STB w dwóch pszenicach syntetycznych – pierwsze doświadczenie polowe

1. Siew i zakażenie – oprysk mieszaniną izolatów (IPO92006, St1-03) – stężenie ok. 15×10^6 zarodników/ml
2. Ocena – określenie procentu pokrycia powierzchni liścia nekrozą (NEC) oraz owocnikami grzyba (PYC)

WYNIKI – temat badawczy 1

Tabela 1. Średni procent pokrycia powierzchni liścia nekrozą (%NEC) i piknidiami (%PYC) dla 11 izolatów *Z. tritici*.

%NEC	St-2024-1	St-2024-4	St-2024-7	St-2024-3	St-2024-5	St-2024-10	St-2024-8	St-2024-6	St-2024-9	St-2024-2	%PYC	St-2024-1	St-2024-8	St-2024-4	St-2024-3	St-2024-7	St-2024-5	St-2024-10	St-2024-6	St-2024-2	St-2024-9
	M3 synthetic (W-7976)	2,0	2,2	3,0	0,4	1,1	3,2	5,1	2,1	2,7		0,9	M3 synthetic (W-7976)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0
Salamouni	5,3	3,8	8,4	2,6	4,3	10,4	16,4	11,4	12,0	12,1	Salamouni	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,2	1,4
M6 synthetic (W-7984)	5,4	1,7	2,4	2,4	14,7	12,5	20,9	13,0	1,8	16,8	Cs Synthetic (6x)7D	2,0	0,0	0,3	1,1	0,4	0,0	0,0	2,6	0,3	2,3
Cs Synthetic (6x)7D	13,5	7,9	5,7	10,1	8,5	21,2	8,2	23,0	28,0	19,4	Florett	0,0	5,9	0,0	0,0	0,0	3,0	0,0	0,0	1,0	0,3
TE9111	2,4	7,4	11,0	6,5	4,5	9,6	6,2	20,2	10,0	68,4	M6 synthetic (W-7984)	0,0	0,3	0,0	0,1	0,1	6,3	0,3	1,7	1,7	0,0
Balance	4,3	12,7	9,1	7,5	8,7	14,5	27,6	14,9	27,4	29,8	Kavkaz-K4500	2,2	0,2	0,0	0,1	0,2	0,2	0,0	0,5	12,8	0,2
Florett	1,6	4,4	26,9	1,9	23,9	4,4	33,4	10,6	14,0	58,9	Balance	0,3	1,2	1,0	1,5	2,8	2,7	0,9	1,6	1,7	4,3
Kavkaz-K4500	12,7	9,3	13,4	10,8	11,3	20,4	10,0	21,9	12,2	70,4	Veranopolis	4,4	11,6	0,0	0,0	0,0	7,5	0,0	0,0	0,0	0,4
Tadinia	3,3	9,8	13,6	8,4	6,8	4,3	7,0	30,4	67,1	50,2	TE9111	0,0	0,0	0,4	1,5	2,9	0,0	0,0	1,8	17,1	0,6
Veranopolis	21,0	8,3	3,7	12,3	43,2	18,3	71,9	12,6	16,4	10,5	Israel493	0,3	0,0	0,0	3,5	0,5	4,4	2,3	2,4	10,8	0,8
Israel493	8,6	15,6	8,9	16,8	19,4	34,2	10,4	24,6	19,2	72,8	Bulgaria88	0,0	5,9	1,3	3,9	13,3	11,1	8,5	26,1	11,1	2,5
Arina	3,4	23,8	27,0	29,1	26,4	31,9	31,7	30,4	43,9	76,9	Flame	0,2	0,3	0,5	0,1	21,4	8,9	1,9	17,4	20,7	17,6
Tuareg	3,1	24,2	24,0	17,0	41,4	29,0	31,1	55,9	52,8	87,8	Begra	0,1	6,5	7,1	10,4	7,3	7,1	14,2	17,3	10,7	17,6
Liwilla	3,7	29,8	25,9	28,9	27,4	44,3	46,5	39,6	58,9	61,6	Apache	0,1	6,5	5,1	6,6	6,8	4,1	14,1	8,0	24,4	24,3
Solitar	9,1	30,5	25,5	13,4	35,8	34,3	40,6	66,8	85,0	57,4	Tuareg	0,0	1,1	0,0	9,9	2,4	17,6	9,8	10,6	34,5	24,1
Flame	5,0	23,2	39,4	15,8	30,7	37,0	46,5	72,0	60,8	86,7	Tadinia	0,0	1,5	2,2	6,6	14,3	3,0	0,6	11,5	33,0	38,9
Mazurka	16,4	40,8	23,5	26,7	29,6	30,5	41,3	70,1	73,5	75,7	Arina	0,0	7,4	13,8	20,8	14,3	6,2	16,9	8,2	40,8	11,9
Estanzuela Federal	11,6	23,0	28,7	31,9	49,9	54,2	42,7	65,0	67,8	85,2	Mazurka	9,6	2,0	27,2	7,1	14,6	4,3	9,3	34,3	15,9	32,5
Courtot	28,9	17,0	14,8	47,8	53,0	66,8	23,0	36,9	84,9	89,6	Liwilla	0,0	12,1	8,2	34,2	20,1	8,9	31,4	6,9	19,5	30,4
Apache	8,4	36,8	39,8	23,3	24,0	43,4	54,9	69,4	76,3	89,5	Solitar	0,3	20,8	1,4	3,9	22,0	9,1	28,3	23,2	39,1	49,6
Riband	20,3	32,9	34,9	38,9	36,1	58,6	52,1	75,2	77,6	74,8	Courtot	3,7	0,8	3,3	6,1	0,3	35,2	22,6	11,9	50,7	64,6
Begra	37,7	50,3	43,1	42,5	37,8	84,2	54,7	64,1	75,6	89,9	Riband	3,5	15,9	3,4	37,4	30,3	14,3	28,6	38,5	40,2	41,3
Bulgaria88	21,8	14,2	65,0	65,2	54,1	63,5	73,0	95,3	44,9	96,6	Estanzuela Federal	1,8	16,8	23,8	18,0	6,5	35,9	37,1	43,2	46,9	41,6
Chinese Spring	42,5	69,5	44,1	63,8	48,1	60,3	61,9	79,4	93,9	90,7	Chinese Spring	22,5	17,4	34,9	39,2	29,6	36,3	34,6	53,8	44,7	62,8
Taichung29	39,8	66,9	56,4	69,3	66,0	81,6	74,9	83,1	76,8	95,3	Taichung29	26,8	23,0	34,9	35,6	43,3	53,0	24,5	60,2	45,3	55,4

WYNIKI – temat badawczy 1

W ramach tematu przetestowano 10 izolatów *Z. tritici* z pięciu miejscowości w Polsce.

St-2024-1 (Modzurów)

najmniej wirulentny izolat pod względem obu parametrów chorobowych
(NEC: 1,6% - 42,5%; PYC: 0% - 22,5%)

St-2024-2 (Węgrzce)

najbardziej wirulentny izolat pod względem parametru NEC (0,9% - 96,6%)

St-2024-9 (Nagradowice)

najbardziej wirulentny izolat pod względem parametru PYC (0,0% - 64,6%)

OBIEKTY ODPORNE: M3 Synthetic (*Stb16q, Stb17*), Cs Synthetic (6x)7D (*Stb5, Stb6*), M6 Synthetic (*Stb8, QTL*), Salamouni (*Stb13, Stb14*), Florett (*Stb6, Stb15, QTL*)



Piknidia z rożkami zarodników



Zakażenie zestawu różnicującego

WNIOSKI – temat badawczy 1

1. Badane izolaty *Z. tritici* wykazały dużą zmienność pod względem swoich zdolności chorobotwórczych.
2. Najbardziej odporne okazały się odmiany/linie: M3 Synthetic (W-7976), Cs Synthetic (6x)7D, M6 Synthetic (W-7984), Salamouni i Florett, natomiast najbardziej podatną była odmiana Chinese Spring.
3. W roku 2024 odnotowano prawdopodobnie przełamanie odporności niesionej przez gen *Stb10*, zidentyfikowany w linii Kavkaz-K4500, co powinno być potwierdzone w kolejnych latach badań.

Ocena porażenia



NEC

Nr	Nazwa	Izolot	Powt.
6	Flame	St-21-115-1	1



PYC

Nr	Nazwa	Izolot	Powt.
6	Flame	St-21-115-1	1

WYNIKI – temat badawczy 2

Rysunek 1. Liczebność obiektów zaklasyfikowanych jako odporne w poszczególnych latach.

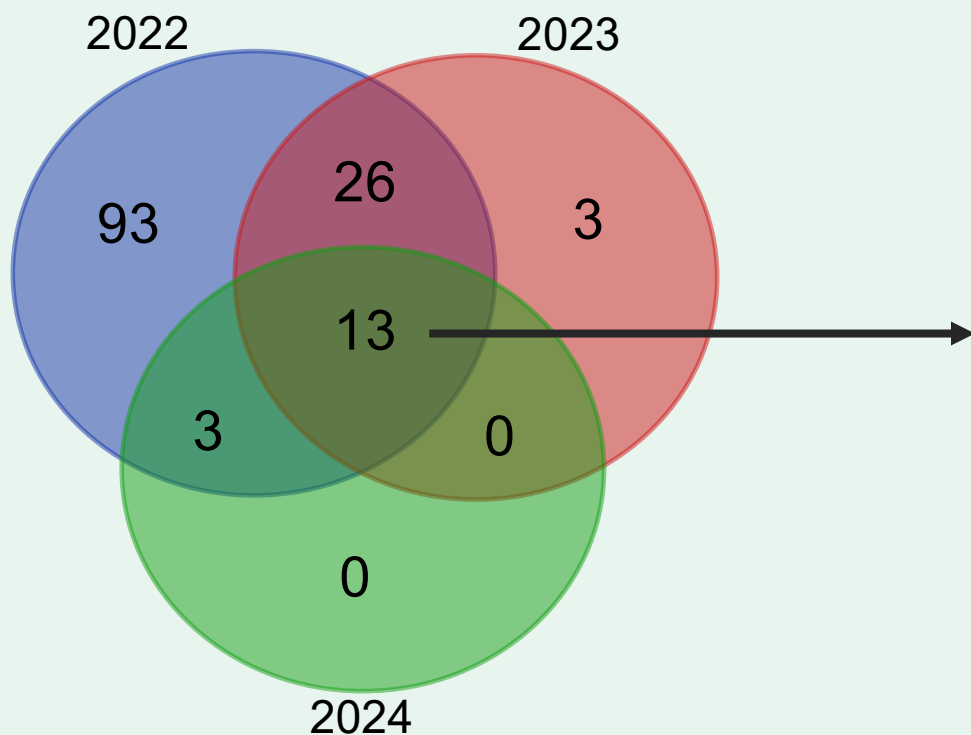


Tabela 2. Pochodzenie oraz średnie wartości NEC i PYC uzyskane w poszczególnych latach trwania projektu dla 13 najbardziej odpornych odmian.

Lp.	Plant ID	Pochodzenie		T_2022_nec [%]	T_2023_nec [%]	T_2024_nec [%]	T_2022_pyc [%]	T_2023_pyc [%]	T_2024_pyc [%]
1	91ARS318	St. Zjednoczone	Ameryka Pn.	25,6	47,4	27,8	0,3	10,1	18,1
2	Druchamp 1940	Francja	Europa	17,0	47,3	43,9	0,2	1,9	3,1
3	Hodoninska Universalni	Słowacja	Europa	8,2	31,0	41,3	0,4	2,4	2,9
4	Dornburger Heils Dickkopf	Niemcy	Europa	3,3	40,8	40,5	0,3	3,9	9,3
5	Staring	Niderlandy	Europa	11,0	27,8	25,2	0,9	0,7	10,9
6	Juliana	Niderlandy	Europa	5,3	20,5	28,5	0,0	1,7	12,7
7	Moeres	Francja	Europa	7,4	47,6	53,9	0,4	2,9	14,2
8	CAR 416	Chile	Ameryka Pd.	13,9	23,6	51,0	1,2	2,2	14,5
9	Plaine	Szwajcaria	Europa	6,9	36,2	47,2	0,1	0,1	5,1
10	Facur Mestnii	Bułgaria	Europa	14,7	38,2	26,0	0,1	13,3	8,0
11	CAR 59	Chile	Ameryka Pd.	1,4	39,7	22,8	0,0	0,3	1,6
12	Horicka	Czechosłowacja	Europa	10,1	38,7	29,9	0,0	0,1	0,3
13	CAR 411	Chile	Ameryka Pd.	18,5	37,7	57,0	0,4	3,3	16,9

GENOTYP

W wyniku analizy na platformie DArTseq uzyskano zestaw danych genotypowych dla 74 543 markerów DArTsnp, natomiast wyniku przyjętych kryteriów pula została zawężona do 11 568 markerów wysoce informatywnych, które zostaną wykorzystane w mapowaniu asocjacyjnym.

WNIOSKI – temat badawczy 2

1. Reakcja populacji mapującej 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 w przeprowadzonych doświadczeniach posiadają w swoim genomie potencjalnie nowe loci odporności na STB.
3. Uzyskana ilość informatywnych markerów DArTsnp jest wystarczająca do przeprowadzenia z powodzeniem mapowania asocjacyjnego.

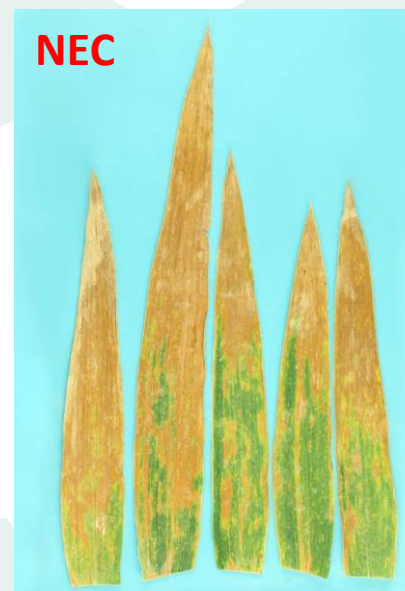
Rośliny gotowe do zakażenia



Zakażenie mieszaniną izolatów *Z. tritici*



Ocena porażenia



WYNIKI – temat badawczy 3

Kombinacja Mandub × Arkadia

Do kolejnego etapu krzyżowań wybrano 10 roślin posiadających allel rodzica dawcy dla 1-4 na 5 przebadanych markerów SSR oraz o procencie tła genetycznego po rodzicu wypierającym w przedziale 75,4% - 89,4%.

Kombinacja M3 Synthetic × Patras

Do kolejnego etapu krzyżowań wybrano 10 roślin posiadających allel rodzica dawcy dla 3 na 4 przebadane markery SSR oraz o procencie tła genetycznego po rodzicu wypierającym w przedziale 90,6% - 94,2%.

WNIOSKI – temat badawczy 3

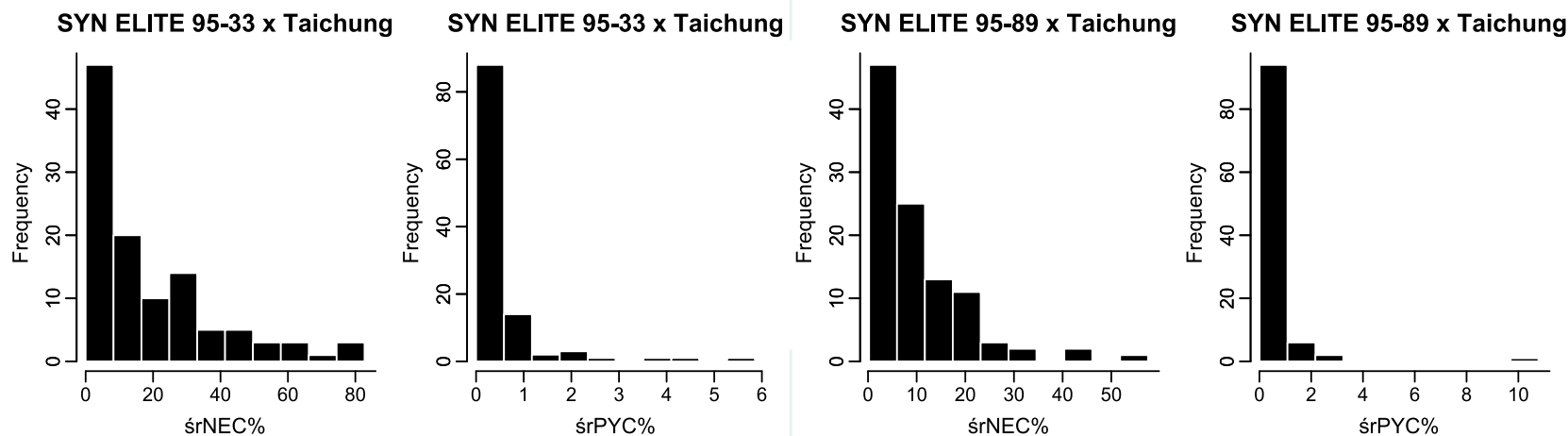
1. Genotypowanie z wykorzystaniem platformy DArTseq jest szybką i skuteczną metodą kontroli tła genetycznego u pszenicy.

Tabela 3. Rośliny F₁BC₃ 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-172	94,2	x		x	x
M3xP-7	93,9	x		x	x
M3xP-15	93,0	x		x	x
M3xP-28	92,7	x		x	x
M3xP-34	92,5	x		x	x
M3xP-8	91,6	x		x	x
M3xP-171	91,5	x		x	x
M3xP-113	91,4	x		x	x
M3xP-160	90,7	x		x	x
M3xP-42	90,6	x		x	x

ID rośliny	% tła genetycznego w typie rodzica wypierającego	wms161	wmc788	barc121	wms443	barc271
MxA-195-09-3	80,6	x	x	x		
MxA-87-07-3	68,4	x		x		
MxA-87-07-1	80,2	x				x
MxA-24-03-2	89,4	x	x	x		x
MxA-195-09-7	87,7	x	x			x
MxA-195-09-9	82,8	x	x			x
MxA-87-08-2	75,4	x	x			
MxA-87-22-2	77,0	x				x
MxA-37-05-1	79,5	x		x		
MxA-87-08-5	76,5					x

WYNIKI – temat badawczy 4



Rysunek 2. Rozkład wartości uzyskanych dla parametrów chorobowych NEC i PYC w dwóch populacjach PS1xT i PS2xT zakażanych mieszaniną izolatów *Z. tritici*.

SYN ELITE95-33 × Taichung (PS1xT)

Parametr NEC: 0,0% – 82,7%, średnia – 19,3%

Parametr PYC: 0,0% – 5,9%, średnia – 0,5%

SYN ELITE95-89 × Taichung (PS2xT)

Parametr NEC: 0,2% – 57,5%, średnia – 10,1%

Parametr PYC: 0,0% – 10,8%, średnia – 0,6%

WNIOSKI – temat badawczy 4

1. Wybitnie niesprzyjające warunki pogodowe (ekstremalnie wysokie temperatury powietrza w czerwcu), spowodowały słabszy rozwój objawów chorobowych badanych genotypów po zakażeniu izolatami grzyba *Z. tritici*.

Informacja o upowszechnianiu:

Poster na konferencji „EUCARPIA 22nd General Congress – Global Challenges for Crop Improvement” (Niemcy, Lipsk, 18-23.08.2024).

Prezentacja wyników opisanych w sprawozdaniach z lat 2021 (strony 3-6), 2022 (strony 3-6), 2023 (strony 3-7).

Plant Breeding and Acclimatization Institute – National Research Institute (PBAI-NRI)

Virulence analysis of Polish isolates of the fungus *Zymoseptoria tritici* causing Septoria tritici blotch

Dominika Piaskowska*, Urszula Piechota, Magdalena Radecka-Janusik, Piotr Słowacki, Paweł Czembor
Plant Breeding and Acclimatization Institute – National Research Institute, Department of Applied Biology, Radzików, 05-870 Błonie
*d.piaskowska@ihar.edu.pl

INTRODUCTION

Septoria tritici blotch (STB) is one of the most significant leaf diseases of wheat and may cause up to 50% yield loss under favorable conditions. It is considered a high-risk pathogen due to its high potential for adaptation and substantial effective population size. It is estimated that over 70% of the fungicides applied annually to cereal crops in Europe target STB. This high selection pressure can be devastating, as STB has been reported to develop resistance to various classes of fungicides within a single growing season. Similarly, resistance in the host plant can also be overcome in a short period of time. Therefore, continuous monitoring of the pathogen population structure and its virulence against host resistance genes is crucial for developing resistant wheat varieties and promoting sustainable agricultural practices.

MATERIALS AND METHODS

The presented study used 33 single-pyrenoid isolates of the fungus *Zymoseptoria tritici*, derived from leaves with STB symptoms, collected in various locations in Poland between 2021 and 2023 (Fig. 1). The virulence profile was determined based on the reaction of the differential set to infection with the fungal isolate. The differential set was composed of 23 wheat varieties/lines containing known STB resistance genes and 2 susceptible checks (Tab. 1). The experiments were conducted under controlled environment on seedlings. Tests were evaluated 21 days after inoculation. Plants were assessed in terms of the percentage of second leaf area covered with necrosis (%NEC) and pycnidia (%PVC). Precise delimitation of disease parameters was made using computer image analysis of infected leaves.

Table 1. Differential set comprising 23 wheat varieties/lines carrying known STB resistance genes and 2 susceptible checks.

WHEAT VARIETY/LINE	STB RESISTANCE GENES
1. Hesperus	SbT1 + SbT2
2. Hesperus	SbT1 + SbT2
3. Hesperus	SbT1 + SbT2
4. Hesperus	SbT1 + SbT2
5. Hesperus	SbT1 + SbT2
6. Hesperus	SbT1 + SbT2
7. Hesperus	SbT1 + SbT2
8. Hesperus	SbT1 + SbT2
9. Hesperus	SbT1 + SbT2
10. Hesperus	SbT1 + SbT2
11. Hesperus	SbT1 + SbT2
12. Hesperus	SbT1 + SbT2
13. Hesperus	SbT1 + SbT2
14. Hesperus	SbT1 + SbT2
15. Hesperus	SbT1 + SbT2
16. Hesperus	SbT1 + SbT2
17. Hesperus	SbT1 + SbT2
18. Hesperus	SbT1 + SbT2
19. Hesperus	SbT1 + SbT2
20. Hesperus	SbT1 + SbT2
21. Hesperus	SbT1 + SbT2
22. Hesperus	SbT1 + SbT2
23. Hesperus	SbT1 + SbT2
24. Hesperus	SbT1 + SbT2
25. Hesperus	SbT1 + SbT2
26. Hesperus	SbT1 + SbT2
27. Hesperus	SbT1 + SbT2
28. Hesperus	SbT1 + SbT2
29. Hesperus	SbT1 + SbT2
30. Hesperus	SbT1 + SbT2
31. Hesperus	SbT1 + SbT2
32. Hesperus	SbT1 + SbT2
33. Hesperus	SbT1 + SbT2

Figure 1. Collection sites of 23 STB isolates.

FINDINGS AND CONCLUSIONS

The tested *Z. tritici* isolates exhibited high diversity in terms of both disease parameters (Fig. 2, Fig. 3). The observed values of the %NEC parameter ranged from 0 to 100%, while the %PVC parameter ranged from 0 to 51%. The most virulent isolate, considering %NEC parameter, produced a necrotic leaf area of over 60% on 17 out of 25 tested lines, while the least virulent one caused necrosis of this severity on only one susceptible check. The occurrence of such a wide range of virulence variants in the set of tested isolates seems to indicate a high adaptive potential of the Polish population of *Z. tritici*. Among the varieties/lines of the differential set, the M3 Synthetic (W-797) line (containing genes *SbT6q* and *SbT17*) exhibited the highest levels of resistance throughout the years, with a maximum %NEC value of 6% and no pycnidia formation observed for any of the tested isolates. Most of the tested isolates were virulent against varieties/lines containing genes *SbT1*, *SbT4*, *SbT5*, *SbT6*, *SbT7* and *SbT8*.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the Polish Ministry of Agriculture and Rural Development, Program of Fundamental Research for Biological Progress in Crop Production (years 2021-2027); Task no. 2, entitled „Septoria tritici blotch of wheat (*Zymoseptoria tritici*): structure of the fungal population, identification of resistance loci in wheat and introduction of effective resistance genes into breeding materials”.

Dziękuję za uwagę

Radzików
05-870 Błonie
tel. +48 22 733 45 00
NIP: 5290007029
REGON: 000079480
e-mail: postbox@ihar.edu.pl
www.ihar.edu.pl

Paweł Czembor
e-mail: p.czembor@ihar.edu.pl