



Tytuł zadania: **Analiza molekularna genów warunkujących odporność poziomą u pszenicy (*Triticum aestivum* L.) na porażenie przez grzyby patogeniczne z rodzaju *Puccinia* sp.**

Numer zadania: **5** (w załączniku nr 8 do rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 29 lipca 2015 w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa Dz. U. z 2015 r. poz. 1170 oraz Dz. U. z 2016 r. poz. 1614)

Okres realizacji zadania: **1 stycznia 2023 r. – 31 grudnia 2024 r.**

Planowane nakłady w zł: **399 859,00**

Kierownik:

Prof. dr hab. Michał Kwiatek,
michal.kwiatek@up.poznan.pl, m.kwiatek@ihar.edu.pl

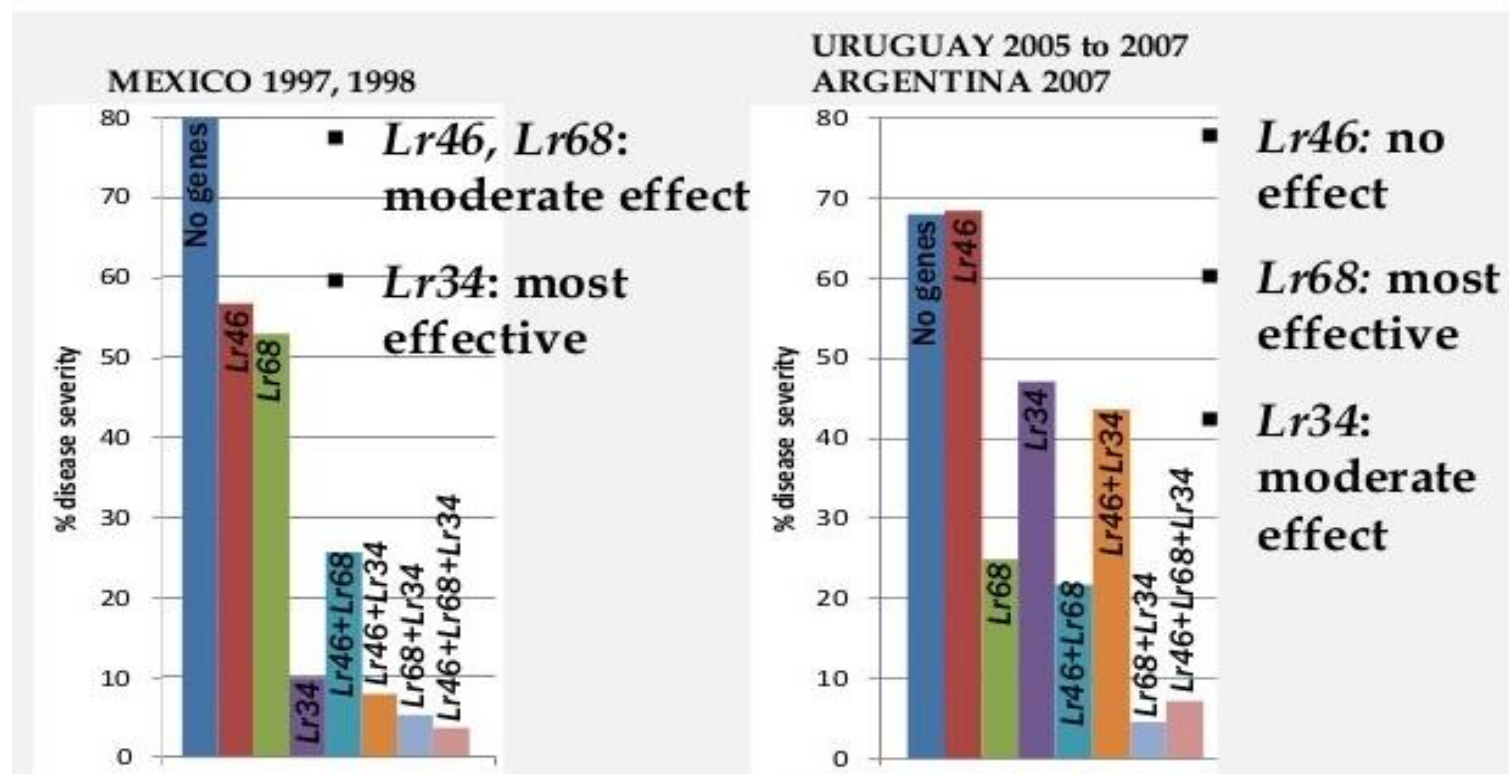
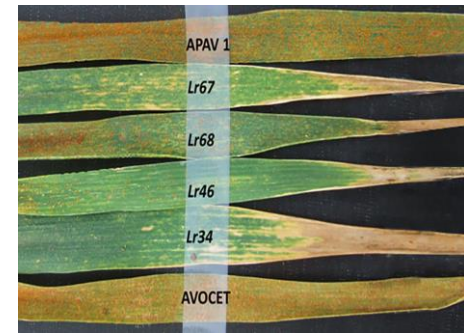
Wykonawcy:

Prof. UPP dr hab. Agnieszka Tomkowiak
Dr inż. Roksana Skowrońska
Dr inż. Sylwia Mikołajczyk
Mgr inż. Aleksandra Noweiska
Mgr inż. Julia Spychała
Paweł Poślednik – pracownik techniczny

Hipoteza badawcza projektu

Piramidyzacja genów warunkujących odporność horyzontalną i wertykalną może podwyższyć stopień odporności na rdzę brunatną

- *Lr34/Yr18/Sr57/Pm38* – 7DS
- *Lr46/Yr29/Pm39* – 1BL
- *Lr67/Yr49* – 4DL
- *Lr68* – 7BL



Huerta-Espino J, i in. (2020) Front. Plant Sci. 11:824. doi: 10.3389/fpls.2020.00824

Plan zadania badawczego w latach 2021-2027

Rok	Czynności w chronologicznym ujęciu przyczynowo-skutkowym
2021	<ol style="list-style-type: none">1. <u>Analiza molekularna</u> genotypów donorowych w celu doboru komponentów do krzyżowań.2. Wysiew donorowych i akceptorowych genotypów ozimych.
2022	<ol style="list-style-type: none">1. Wysiew donorowych i akceptorowych genotypów jarych.2. Krzyżowanie genotypów donorowych z akceptorowymi.3. Wysiew ozimych genotypów pokolenia F_1 oraz <u>analiza molekularna</u>.
2023	<ol style="list-style-type: none">1. Wysiew jarych genotypów pokolenia F_1 oraz <u>analiza molekularna</u>.2. Krzyżowanie genotypów F_1 z genotypami akceptorowymi.3. Wysiew ozimych genotypów pokolenia BC_1F_1 oraz <u>analiza molekularna</u>.
2024	<ol style="list-style-type: none">1. Wysiew jarych genotypów pokolenia BC_1F_1 oraz <u>analiza molekularna</u>.2. Krzyżowanie genotypów BC_1F_1 z genotypami akceptorowymi.3. Wysiew ozimych genotypów pokolenia BC_2F_1 oraz <u>analiza molekularna</u>.
2025	<ol style="list-style-type: none">1. Wysiew jarych genotypów pokolenia BC_2F_1 oraz <u>analiza molekularna</u>.
do 2027	<ol style="list-style-type: none">1. Analizy porażenia oraz <u>analizy molekularne</u> w trzyletnim doświadczeniu polowym.

Obramowano czynności w roku sprawozdawczym 2024

Cele zadania w 2023

Lp.	Nazwa tematu badawczego	Termin rozpoczęcia – zakończenia realizacji tematu badawczego w miesiącach od rozpoczęcia realizacji zadania	Przewidywane koszty realizacji tematu badawczego	Czy cel został zrealizowany
1	Analiza molekularna 2000 prób pszenicy ozimej powstałej w wyniku krzyżowań, w celu identyfikacji markerów genów typu odporności poziomej („slow rusting”) oraz pionowej.	1 – 12	151 929,50 zł	częściowo*
2	Analizy 150 prób pobranych z pięciu genotypów kombinacji krzyżowań (fitotron) w celu określenia ekspresji genów typu „slow rust”.	1 – 12	247 929,50 zł	częściowo*
Razem			399 859,00 zł	

Cele nr 1 i 2 nie zostały w pełni zrealizowane - stan na 29 listopada 2024 r. - powody oraz sposoby realizacji:

- w połowie listopada zebrano wszystkie próby genotypów ozimych;
- w ostatnim tygodniu listopada oraz w grudniu 2024 r. przeanalizowane zostaną pozostałe wyniki analiz molekularnych w ramach tematu badawczego nr 1 oraz ddPCR wraz z analizą statystyczną wszystkich danych uzyskanych w ramach tematu badawczego nr 2.

Materiał badawczy i metody – temat badawczy nr 1

Formy ozime BC ₂ F ₁				Formy jare F ₁			
Spółka	Kombinacja	Liczba przeanalizowanych genotypów	Liczba przeanalizowanych prób	Spółka	Kombinacja	Liczba przeanalizowanych genotypów	Liczba przeanalizowanych prób
DAN	Bataja x TX	103	206	DAN	Itaka x Glenlea	7	14
DAN	Bataja x Purdue	0	0	DAN	Itaka x NP846	0	0
DAN	Kariadyda x TX	0	0	DAN	Itaka x A99AR	0	0
DAN	Kariadyda x Purdue	0	0	MHR	Harenda x Glenlea	1	2
MHR	Medalistka x TX	0	0	MHR	Harenda x NP846	2	2
MHR	Medalistka x Purdue	0	0	MHR	Harenda x A99AR	2	4
PHR	AND x TX	0	0	MHR	Jutrzenka x Glenlea	0	0
PHR	AND x Purdue	0	0	MHR	Jutrzenka x NP846	1	2
PHR	NAD x TX	0	0	MHR	Jutrzenka x A99AR	0	0
PHR	NAD x Purdue	0	0	PHR	Carusum x Glenlea	0	0
SMH	Symetria x TX	38	76	PHR	Carusum x NP846	0	0
SMH	Symetria x Purdue	77	154	PHR	Carusum x A99AR	0	0
STH	Euforia x TX	0	0	SMH	Merkawa x Glenlea	14	28
STH	Euforia x Purdue	0	0	SMH	Merkawa x NP846	0	0
Suma ozime:		218	436	SMH	Merkawa x A99AR	0	0
				STH	Aura x Glenlea	10	20
				STH	Aura x NP846	5	10
				STH	Aura x A99AR	12	24
				Suma jare:		54	108
Liczba przeanalizowanych genotypów:							272
Liczba przeanalizowanych prób:							544

Materiał badawczy i metody – temat badawczy nr 1

Etapy realizacji tematu badawczego nr 1:

1. Analiza pokolenia BC1F1 (formy jare)
2. Analiza pokolenia BC2F1 (formy ozime)
3. Analiza markera fenotypowego – LTN



Lp	Gen	Marker	Typ markera	Sekwencje starterów (5' – 3')		T.a. [°C]	Źródło
				Forward	Reverse		
Markery molekularne genów typu „slow rusting”							
1.	Lr34	csLV34	SSR	GTT GGT TAA GAC TGG TGA TGG	TGC TTG CTA TTG CTG AAT AGT	55	MAS Wheat
2.	Lr46	csLV46G22	CAPS	Sekwencje oraz warunki reakcji otrzymane dzięki współpracy z Prof. E. Lagudah'em Poufne do momentu publikacji wyników			
3.		Xwmc44	SSR	GGT CTT CTG GGC TTT GAT CCT G	GTT GCT AGG GAC CCG TAG TGG	61	MAS Wheat
4.	Lr67	Xcfd71	SSR	CAA TAA GTA GGC CGG GAC AA	TGT GCC AGT TGA GTT TGC TC	60	
5.		Xcfd23	SSR	TAG CAG TAG CAG CAG CAG GA	GCA AGG AAG AGT GTT CAG CC	60	
6.	Lr68	csGS	SSR	AAG ATT GTT CAC AGA TCC ATG TCA	GAG TAT TCC GGC TCA AAA AGG	60	
Markery molekularne genów głównych							
7.	Lr26	P6M12	SSR	GTACTAGTATCCAGAGGTCACAAG	CAGACAAACAGAGTACGGGC	57	MAS Wheat
8.	Lr28	SCS421	SSR	ACAAGGTAAGTCTCCAACCA	AGTCGACCGAGATTTAACC	60	

Wyniki – temat badawczy 1

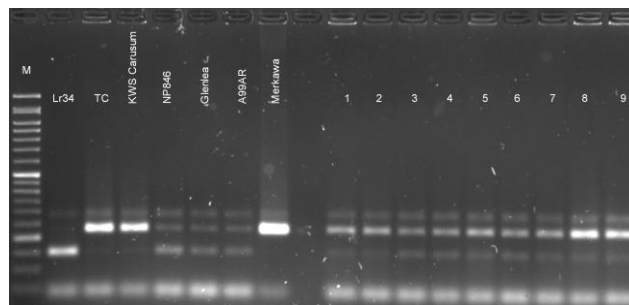
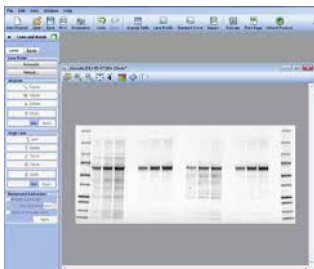
Lp.	Genotyp	Donor/akceptor	Geny typu „slow rusting”				Geny główne	
			Lr34	Lr46	Lr67	Lr68	Lr26	Lr28
Pszenvica jara								
1.	Glenlea	Donor	+	+	-	+	-	-
2.	NP846	Donor	+	+	-	+	-	-
3.	A99AR	Donor	+	+	-	+	-	-
4.	Itaka	Akceptor	-	-	-	+	+	-
5.	Merkawa	Akceptor	-	+	-	-	-	+
6.	Aura	Akceptor	-	+	-	-	x	x
7.	Harenda	Akceptor	-	-	-	-	-	+
8.	Jutrzenka	Akceptor	-	-	-	-	-	+
9.	Carusum	Akceptor	-	+	-	+	-	+
Pszenvica ozima								
10.	TX	Donor	+	+	-	-	-	+
11.	Purdue	Donor	-	+	+	+	-	-
12.	Bataja	Akceptor	-	-	-	-	-	-
13.	Kariatyda	Akceptor	-	-	-	-	-	-
14.	Symetria	Akceptor	-	+	-	-	-	+
15.	Euforia	Akceptor	-	+	-	+	-	-
16.	Medalistka	Akceptor	-	+	-	-	-	+
17.	NAD	Akceptor	-	-	-	-	-	-
18.	AND	Akceptor	-	-	-	-	-	-

1. Formy jare (BC₁F₁) – korzystne układy:

- 24/1 ((Aura x Glenlea) x Aura) wykazał stan homozygotyczny względem *Lr46 res*, wskazując, że ten genotyp może być wykorzystany do dalszych prac celem piramidyzacji genów odporności.

2. Formy ozime (BC₂F₁) – korzystne układy:

- Symetria x Purdue (*Lr46+Lr67+Lr68+Lr28*) – *Lr46* homozygota!
- Symetria x TX (*Lr34+Lr46+Lr67+Lr68+Lr28*)



Wyniki – temat badawczy 1

Obserwacje nekrozy końcówek liści (LTN)



- *Lr34 - Ltn1,*
- *Lr46 - Ltn2,*
- *Lr67 - Ltn3,*
- *Lr68 - Ltn4.*

- Charakterystyczne nekrozy końcówek liści obserwowano u 47 badanych genotypów

Nr	Odmiana/Genotyp	Numer referencyjny	LTN 2021	LTN 2022	LTN 2023	LTN 2023														
						1	2	3	4	5	6	7	8	9	10					
1.	Ceruga-4	PI 560118	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.	San Martin	PI 116314	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3.	H 51	PI 191925	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4.	Artigas	PI 192535	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5.	Larranaga	PI 191713	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6.	ProNtA Imperial NIL Glu-B3i_BuckManant.	PI 674008	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7.	NP 818	PI 422294	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8.	Buck Manantial	PI 344455	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9.	Janz	PI 591910	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10.	7536K-51A4	PI 553001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11.	7531-V3D	PI 552994	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12.	Jacui	PI 520498	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13.	P8802-C1*3A2C16	PI 596351	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14.	P8802-C1*3A2A2U	PI 596350	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15.	HD 2329	PI 648391	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16.	K494	PI 250413	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17.	Glenlea	Ctr 17272	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18.	Artigas	PI 73046	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19.	Amurskaya 90	PI 592036	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20.	Lerma Rojo	Ctr 13651	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21.	363-11	PI 527696	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22.	256-3	PI 527695	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23.	NP 846	PI 322263	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24.	75M-505-001-001	PI 556464	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25.	7531-AP5A	PI 552997	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26.	7531-AG5B	PI 552996	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27.	7531-AG5A	PI 552995	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28.	CM 46725-3P-1P-3P-2P	PI 520562	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
29.	Cook	PI 442900	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30.	PAT 7219	PI 423416	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31.	HI 617	PI 422283	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
32.	Oxley	PI 386167	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33.	NP 718	PI 322236	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34.	San Martin	PI 104137	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
35.	A99AR	PI 600923	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
36.	Klein San Martin	PI 191884	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37.	H 51	PI 184512	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
38.	San Martin	PI 117500	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
39.	San Martin	Ctr 8437	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40.	Record	Ctr 8399	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41.	Frontana	Ctr 12470	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
42.	Chris	Ctr 13751	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
43.	ROD	PI 191772	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
44.	Frontana 3671	PI 193932	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
45.	Frontana LF 320	PI193933	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
46.	Frontana LF 321	PI193934	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
47.	Fronthatch-1	PI 290745	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
48.	Fronthatch-2	PI 297014	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
49.	Fronthatch-3	PI 299419	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50.	Toropi	PI 344200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
51.	Frontaleza	PI 351779	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52.	Sparrow	PI 519725	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
53.	Pavon F76	PI 519847	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
54.	Pavon 76	PI 520003	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
55.	Pavon	PI 520054	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
56.	Pavon	PI 520172	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
57.	Myna	PI 520340	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
58.	Junco	PI 519947	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
59.	Tanager	PI 519878	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60.	Parula	PI 520340	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
61.	Rayon 89	PI 591786	+	+	X	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
62.	Cumpas 88	PI 591786	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
63.	Mochis 88	PI 591791	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
64.	P8901-AP	PI 613175	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65.	P8901-AQ	PI 613176	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66.	Tlaxcala F2000	PI 619634	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
67.	Lr34	GSTR 433	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
68.	IWAS608696	PI 604623	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
69.	Anza	PI 638742	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
70.	UC1110	PI 671999	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
71.	Kern	PI 672001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
72.	TX8906435	PI 584759	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
73.	Purdue	Ctr 13227	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Wnioski i mierniki – temat badawczy 1

•Pszenica jara:

- **Lr34:** Obecność heterozygotycznych układów allelicznych; brak homozygoty dla allelu Lr34res w pokoleniach BC1F1.
- **Kombinacje krzyżowe:**
 - Itaka x Glenlea: 6 heterozygot.
 - Harenda, Aura, Merkawa: Wyniki podobne, z eliminacją Lr34res w odmianie Aura.
 - Możliwość dalszej selekcji dla pożądaných układów allelicznych.
- **Lr46:** Obecność homozygotycznych układów Lr46res w kombinacjach Itaka x Glenlea, Aura, Harenda, Merkawa, z eliminacją w niektórych genotypach Aura.
- **Lr68:** Obecność tego allelu w wielu genotypach, w tym 2 homozygotyczne dla Lr68res w kombinacji Itaka x Glenlea.
- **Brak Lr26 i Lr28:** Nieobecność w materiałach donorowych i akceptorowych; potrzeba wprowadzenia tych genów z innych źródeł.

•Pszenica ozima:

- **Lr34:** Heterozygotyczne układy alleliczne w większości kombinacji (Bataja x TX, Symetria x TX). W Symetria x Purdue brak Lr34res.
- **Lr46:** Brak allelu Lr46res w analizowanych genotypach, potrzeba poszukiwania nowych źródeł tego genu.
- **Lr67:** Brak tego allelu w analizowanych genotypach pszenicy ozimej, szczególnie w Purdue.
- **Lr68:** Obecność u 45 genotypów pszenicy ozimej, możliwa do wykorzystania w przyszłych programach hodowlanych.

•Obserwacje nekrozy końcówek liści (LTN):

- Zjawisko nekrozy końcówek liści w 47 genotypach pszenicy donorowej, zgodne z wynikami z lat ubiegłych.
- Potwierdzenie skuteczności mechanizmów odporności typu „slow rusting” (Lr34, Lr46, Lr67, Lr68).

•Podsumowanie:

- Zróżnicowana obecność alleli odpornościowych na rdzę brunatną w różnych kombinacjach pszenicy jarej i ozimej.
- Obiecujące wyniki dla genów Lr34 i Lr68, które mogą być wykorzystane w dalszych programach hodowlanych pszenicy odpornej na rdzę brunatną.

L.p	Miernik	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana
1.	Liczba genotypów	1000	272
2.	Liczba analizowanych prób	2000	544
3.	Liczba badanych genów	6	6
4.	Liczba analizowanych markerów	8	8

Temat badawczy 2

Analiza ekspresji genów typu „slow rusting” w mieszańcowych genotypach pszenicy

- Izolacja RNA
- Synteza cDNA
- qPCR (ang. quantitative polymerase chain reaction)
- ddPCR (ang. droplet digital PCR)
- Testy inokulacyjne – fitotron
- Obserwacje naturalnego porażenia

Firma hodowlana	Genotyp akceptorowy	Genotyp donorowy	Uzyskane formy mieszańcowe F ₁
Danko Hodowla Roślin Sp. z o.o.	Bataja	TX	TX × Bataja
		TX	TX × Euforia
Strzelce Sp. z o.o. Grupa IHAR	Euforia	Purdue	Purdue × Euforia
		TX	TX × Medalistka
Małopolska Hodowla Roślin Sp. z o.o.	Medalistka	Purdue	Purdue × Medalistka
		TX	TX × Symetria
Smolice Sp. z o.o. Grupa IHAR	Symetria	Purdue	Purdue × Symetria
		TX	TX × Symetria

- Analiza ekspresji genów *Lr34*, genów kandydatów *Lr46 (Glu2, Rlk2, Rlk3)* oraz genu *Lr67* wykonana zostanie w grudniu 2024
- Dyskusja oraz wnioski zostaną opracowane po analizie wszystkich wyników oraz umieszczone w ostatecznej wersji sprawozdania.

L.p	Miernik	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana
1.	Liczba genotypów	5	0
2.	Liczba analizowanych mikro RNA	6	0
3.	Liczba badprób mRNA do analiz qPCR	150	0
4.	Liczba badprób mRNA do analiz ddPCR	150	0

Informacja nt. prezentacji wyników badań

Prezentacja wyników na konferencjach			
lp.	konferencja	rodzaj prezentacji ¹	liczba prezentacji
1.	Dr Roksana Bobrowska. Referat pt. „Opracowanie reakcji multiplex PCR do jednoczesnej identyfikacji genów odporności na najważniejsze choroby pszenicy zwyczajnej (<i>Triticum aestivum</i> L.). Ogólnopolska konferencja naukowa pt.: „Nauka dla postępu biologicznego”. Lublin, 21-22 maja 2024 roku.	referat	1
2.	Dr Roksana Bobrowska. Referat XXII Konferencja pt.: “Biotechnologia na Politechnice Bydgoskiej a wyzwania współczesnego świata”. Bydgoszcz, 13 czerwca 2024 r.	referat	1
3.	Dr Roksana Bobrowska. Poster pt.: “Pyramidization of horizontal (slow rusting) and vertical leaf rust resistance genes in top Polish varieties of common wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.) and development of multiplex PCR reaction variants. EUCARPIA General Congress – „Global Challenges for Crop Improvement”. Lipsk (Niemcy), 18-23 sierpnia 2024 r.	poster	1
4.	Mgr inż. J. Spychała. E-poster APR gene expression pathways in common wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.) involved in the ‘slow rusting’ effect in response to <i>Puccinia triticina</i> infection. Dni Młodego Naukowca 2024. Radzików, 24-25. 10.2024.	referat	1
Publikacje w monografiach/czasopismach recenzowanych			
lp.	monografia/czasopismo	rodzaj publikacji ²	liczba publikacji
5.	Spychała, J.; Tomkowiak, A.; Noweiska, A.; Bobrowska, R.; Bocianowski, J.; Sobiech, A.; Kwiatek, M.T. Diversity of Expression Patterns of <i>Lr34</i> , <i>Lr67</i> , and Candidate Genes towards <i>Lr46</i> with Analysis of Associated miRNAs in Common Wheat Hybrids in Response to <i>Puccinia triticina</i> Fungus. <i>Curr. Issues Mol. Biol.</i> 2024, 46, 5511–5529.	publikacja oryginalna	1
6.	Spychała J, Tomkowiak A, Noweiska A, Bobrowska R, Rychel-Bielska S, Bocianowski J, ..., Kwiatek, M.T. (2024) Expression patterns of candidate genes for the <i>Lr46/Yr29</i> “slow rust” locus in common wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.) and associated miRNAs inform of the gene conferring the <i>Puccinia triticina</i> resistance trait. <i>PLoS ONE</i> 19(9): e0309944.	Publikacja oryginalna	1
7.	Spychała J, Noweiska A, Tomkowiak A., Bobrowska R, Szewczyk K, Kwiatek M.T. (2024) Unravelling effects of miRNAs associated with APR leaf rust resistance genes in hybrid forms of common wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.). W recenzji – <i>International Journal of molecular sciences</i> .	publikacja oryginalna	1

PLOS ONE

RESEARCH ARTICLE

Expression patterns of candidate genes for the *Lr46/Yr29* “slow rust” locus in common wheat (*Triticum aestivum* L.) and associated miRNAs inform of the gene conferring the *Puccinia triticina* resistance trait

Julia Spychała^{1,2}, Agnieszka Tomkowiak^{1*}, Aleksandra Noweiska^{1,2}, Roksana Bobrowska¹, Sandra Rychel-Bielska³, Jan Bocianowski⁴, Lukasz Wolko⁵, Przemyslaw Lukasz Kowalczewski⁶, Marcin Nowicki^{7*}, Michał Tomasz Kwiatek^{1,8}

1 Department of Genetics and Plant Breeding, Poznań University of Life Sciences, Poznań, Poland, **2** Plant Breeding and Acclimatization Institute - National Research Institute in Radzików, Poznań Division, Department of Oilseed Crops, Poznań, Poland, **3** Department of Genetics, Plant Breeding and Seed Production, Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Wrocław, Poland, **4** Department of Mathematical and Statistical Methods, Poznań University of Life Sciences, Poznań, Poland, **5** Department of Biochemistry and Biotechnology, Poznań University of Life Sciences, Poznań, Poland, **6** Department of Food Technology of Plant Origin, Poznań University of Life Sciences, Poznań, Poland, **7** Department of Entomology and Plant Pathology, Institute of Agriculture, University of Tennessee, Knoxville, Tennessee, United States of America, **8** Plant Breeding and Acclimatization Institute - National Research Institute in Radzików, Radzików, Poland

* agnieszka.tomkowiak@up.poznan.pl (AT); mnowicki@utk.edu (MN)



OPEN ACCESS

Citation: Spychała J, Tomkowiak A, Noweiska A, Bobrowska R, Rychel-Bielska S, Bocianowski J et al. (2024) Expression patterns of candidate genes for the *Lr46/Yr29* “slow rust” locus in common wheat (*Triticum aestivum* L.) and associated miRNAs inform of the gene conferring the *Puccinia triticina* resistance trait. *PLoS ONE* 19(9): e0309944. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0309944>

Editor: Vaibhav Kumar Singh, Indian Agricultural Research Institute, INDIA

Received: May 19, 2024

Accepted: August 22, 2024

Published: September 6, 2024

Copyright: © 2024 Spychała et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the manuscript and its Supporting Information files.

Funding: This study was financed by the framework of Ministry of Agriculture and Rural Development (Poland) program: “Biological Progress in Plant Production” in years 2021–2027, task No. 5: “A molecular analysis of an adult plant”

Abstract

Leaf rust caused by *Puccinia triticina* (*Pt*) is one of the most impactful diseases causing substantial losses in common wheat (*Triticum aestivum* L.) crops. In adult plants resistant to *Pt*, a horizontal adult plant resistance (APR) is observed: APR protects the plant against multiple pathogen races and is distinguished by durable persistence under production conditions. The *Lr46/Yr29* locus was mapped to chromosome 1B of common wheat genome, but the identity of the underlying gene has not been demonstrated although several candidate genes have been proposed. This study aimed to analyze the expression of nine candidate genes located at the *Lr46/Yr29* locus and their four complementary miRNAs (tae-miR5384-3p, tae-miR9780, tae-miR9775, and tae-miR164), in response to *Pt* infection. The plant materials tested included five reference cultivars in which the molecular marker *csLV46G22* associated with the *Lr46/Yr29*-based *Pt* resistance was identified, as well as one susceptible control cultivar. Biotic stress was induced in adult plants by inoculation with fungal spores under controlled conditions. Plant material was sampled before and at 6, 12, 24, 48 hours post inoculation (hpi). Differences in expression of candidate genes at the *Lr46/Yr29* locus were analyzed by qRT-PCR and showed that the expression of the genes varied at the analyzed time points. The highest expression of *Lr46/Yr29* candidate genes (*Lr46-Glu1*, *Lr46-Glu2*, *Lr46-Glu3*, *Lr46-RLK1*, *Lr46-RLK2*, *Lr46-RLK3*, *Lr46-RLK4*, *Lr46-Snex*, and *Lr46-WRKY*) occurred at 12 and 24 hpi and such expression profiles were obtained only for one

PLOS ONE | <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0309944> September 6, 2024

1/24