

## Wykorzystanie reakcji multipleks PCR do jednoczesnej identyfikacji genów odporności na choroby pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.).

**Roksana Bobrowska, Aleksandra Noweiska, Julia Spychała, Agnieszka Tomkowiak, Michał T. Kwiatek**

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Genetyki i Hodowli Roślin

[roksana.bobrowska@up.poznan.pl](mailto:roksana.bobrowska@up.poznan.pl)

Rdza brunatna, powodowana przez *Puccinia triticina* Eriks., jest jedną z najbardziej powszechnych chorób pszenicy na świecie. W optymalnych warunkach środowiskowych infekcja może znacznie zmniejszyć masę i liczbę ziarniaków w kłosie, co przekłada się na spadek plonu nawet do 70%. Ponad 80 genów odporności *Lr* (ang. *Leaf rust*, rdza brunatna) zostało zidentyfikowanych i opisanych w Catalogue of Genes Symbols for Wheat. Większość z nich należy do grupy głównych genów odporności (geny R). Inny typ genów oporności, zwany genami oporności rasowo niespecyficznej lub genami oporności poziomej, zapewnia trwałą odporność na wszystkie rasy różnych patogenów. Piramidyzacja genów zapewniających odporność na określoną rasę patogenu wraz z wprowadzeniem rasowo niespecyficznych genów odporności jest najskuteczniejszą strategią mającą na celu zapobieganie załamywaniu się odporności uwarunkowanej genetycznie. Selekcja osobników jest ważnym etapem w hodowli pszenicy.

Obecnie klasyczną selekcję wspiera identyfikacja markerów molekularnych związanych z wartościowymi cechami. Chociaż techniki molekularne są wysoce specyficzne, czułe i niezawodne, są jednak drogie, pracochłonne i czasochłonne. Multipleksowa reakcja łańcuchowa polimerazy (multipleks PCR) była z powodzeniem wykorzystywana w wielu dziedzinach badań DNA. Pozwala na jednoczesną amplifikację dwóch lub więcej *loci* w jednej reakcji, co skraca czas i zmniejsza koszty badań.

Celem badań było opracowanie multipleksowych protokołów PCR do jednoczesnej identyfikacji głównych genów odporności na rdzę liści *Lr19*, *Lr24*, *Lr26* i *Lr38* wraz z genami typu „*slow rusting*” *Lr34* i *Lr68* w różnych kombinacjach, które mogą być do wykorzystane do selekcji w hodowli pszenicy.

Badania dofinansowane przez MRiRW w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w latach 2021-2027 – zadanie nr 5. Analiza molekularna genów warunkujących odporność poziomą u pszenicy (*Triticum aestivum* L.) na porażenie przez grzyby patogeniczne z rodzaju *Puccinia* sp.

## Analiza obecności wybranych genów odporności na rdzę brunatną u odmian pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L.).

**Aleksandra Noweiska, Roksana Bobrowska, Julia Spychała, Michał T. Kwiatek**

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Genetyki i Hodowli Roślin

[aleksandra.noweiska@up.poznan.pl](mailto:aleksandra.noweiska@up.poznan.pl)

Produkcja zbóż w Polsce jest jedną z najważniejszych gałęzi rolnictwa i ma kluczowe znaczenie dla gospodarki żywnościowej kraju. Na uprawę zbóż w znacznym stopniu wpływają: warunki klimatyczne, postęp hodowlany, wielkość oraz struktura gospodarstwa, a także poziom rozwoju technologicznego. W 2021r. Polska zajęła trzecie miejsce (tuż po Francji i Niemczech wśród krajów członkowskich) pod względem wielkości arealu uprawy, oraz trzecie (po Francji i Niemczech) w uzyskiwanych zbiorach. Choroby roślin są aktualnie główną przyczyną strat w produkcji roślinnej. Patogeny roślinne są przyczyną redukcji plonów o 1/5. Patogen *Puccinia triticina* Eriks. (*Pt*), odpowiedzialny za rdzę brunatną liści, może rozwijać się w szerokim zakresie warunków klimatycznych, szybko rozprzestrzenia swoje zarodniki poprzez wiatr ułatwiając przełamanie odporności genetycznej. Infekcja wpływa na zmniejszenie masy i liczby ziaren w kłosie w optymalnych warunkach środowiskowych, co może skutkować spadkiem plonu nawet o 70%. Występowanie chorób wywoływanych przez *Puccinia triticina* Eriks. ograniczane jest między innymi poprzez stosowanie odmian z genami odporności. Zidentyfikowano ponad 80 genów odporności *Lr* (ang. *Leaf rust*), jednak niewiele z nich nadaje roślinom oczekiwany poziom odporności i często wiąże się z niepożądanymi cechami. Jednym z problemów jest zubożenie puli genowej nowoczesnych odmian zbóż, co powoduje poszukiwanie nowych potencjalnych źródeł genów odporności, stąd bardzo duże ma znaczenie dysponowanie aktualnymi i pełnymi danymi o odporności form i materiałów hodowlanych pszenicy.

Celem badania była analiza obecności wybranych genów odporności na rdzę brunatną w odmianach pszenicy ozimej zarejestrowanych w Polsce, Europie zachodniej oraz w przykładowych liniach hodowlanych. Badania dofinansowane przez MRiRW w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w latach 2021-2027 – zadanie nr 5. Analiza molekularna genów warunkujących odporność poziomą u pszenicy (*Triticum aestivum* L.) na porażenie przez grzyby patogeniczne z rodzaju *Puccinia* sp.

Analiza profili ekspresji genów typu „slow rust” oraz badanie powiązanych miRNA u mieszańców pszenicy zwyczajnej w odpowiedzi na infekcję *Puccinia triticina*.

**Julia Spychała, Agnieszka Tomkowiak, Roksana Bobrowska,  
Aleksandra Noweiska, Michał Kwiatek**

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Genetyki i Hodowli Roślin

[julia.spychala@up.poznan.pl](mailto:julia.spychala@up.poznan.pl)

Rdza brunatna powodowana przez *Puccinia triticina* jest jedną z najgroźniejszych chorób prowadzących do znaczących strat w uprawach pszenicy zwyczajnej. U dorosłych, odpornych na rdzę roślin obserwuje się odporność typu APR (adult plant resistance), która chroni roślinę przed wieloma rasami patogenów i wyróżnia się trwałością w warunkach produkcyjnych. Kluczowe geny typu slow rust, takie jak *Lr34*, *Lr46*, *Lr67* i *Lr68*, w połączeniu z innymi genami *Lr*, skutecznie zwiększają trwałą odporność na choroby powodowane przez rdzę. Celem pracy była analiza różnic w ekspresji genu *Lr34*, genów kandydujących dla *Lr46* oraz genu *Lr67* odpowiedzialnych za zróżnicowaną odporność na rdzę brunatną form mieszańcowych F1 powstałych w wyniku krzyżowania odmiany Glenlea z genotypami pochodzącymi z polskich firm hodowlanych. U dorosłych roślin indukowano stres biotyczny poprzez inokulację zarodnikami grzybów w warunkach kontrolowanych w fitotronie. Materiał roślinny pobierano przed oraz po 6, 12, 24, 48 h po inokulacji (hpi). Różnice w ekspresji wybranych genów kandydujących analizowano z wykorzystaniem real-time PCR. Dodatkowo analizowano ekspresję cząsteczek miRNA komplementarnych do genu *Lr34* oraz genów kandydujących dla *Lr46* przy użyciu ddPCR. Badania wykazały, że ekspresja tych genów kształtuje się w sposób zróżnicowany w wybranych punktach czasowych. Spośród analizowanych genów, gen kandydujący *Lr46-Glu2* charakteryzował się najwyższą ekspresją po inokulacji. Sugeruje to jego istotną rolę w procesach odpornościowych. Kolejnym genem o wysokiej ekspresji był inny gen kandydujący *Lr46-RLK3*. Rola pozostałych genów *Lr46-RLK1* i *Lr46-RLK2* była nieistotna statystycznie. Wyniki wskazują, że poziom ekspresji genu kandydującego *Lr46-Glu2* dla wszystkich form mieszańcowych intensywnie wzrasta w 24 hpi. Zgodnie z danymi literaturowymi po inokulacji patogenem ekspresja genów *Lr* jest najwyższa po 12 i 24 godzinach. Taki profil ekspresji został zaobserwowany tylko w przypadku genu *Lr46-Glu2*, co sugeruje, że jest związany z reakcją roślin na porażenie przez rdzę brunatną i może być właściwym genem *Lr46*.