



**UNIWERSYTET  
PRZYRODNICZY**  
w Lublinie



**WYDZIAŁ  
AGROBIOINŻYNIERII**

## **AUTOREFERAT**

**przedstawiający opis dorobku i osiągnięć naukowych**

**Dr Edyta Małgorzata Paczos-Grzęda**

**UNIWERSYTET PRZYRODNICZY W LUBLINIE**  
**Wydział Agrobiotechnologii**  
**Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin**

**Lublin 2019**

## SPIS TREŚCI

1. Dane personalne .....	3
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe .....	3
3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.....	3
4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311).....	4
a) Tytuł osiągnięcia naukowego .....	4
b) Publikacje składające się na osiągnięcie naukowe .....	4
c) Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników .....	5
5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych .....	19
6. Podsumowanie dorobku naukowego .....	26
7. Osiągnięcia związane z działalnością dydaktyczną i organizacyjną .....	27

## 1. Dane personalne

### Imię i nazwisko:

Edyta Małgorzata Paczos-Grzęda

### Miejsce zatrudnienia:

Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin  
Wydział Agrobioinżynierii  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

## 2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe:

### 1998 magister biotechnologii

Uniwersytet Marii-Curie Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi,  
Kierunek Biotechnologia, specjalność: biologia molekularna  
„Oczyszczanie i charakterystyka kinaz zależnych od cyklicznych nukleotydów  
z drożdży *Saccharomyces cerevisiae* i *Trichosporon cutaneum*”  
Promotor: dr hab. Teresa Jakubowicz

### 2002 doktor nauk rolniczych w zakresie agronomii – genetyka i hodowla roślin

Akademia Rolnicza w Lublinie, Wydział Rolniczy, Instytut Genetyki i Hodowli  
Roślin  
„Studia genetyczno-hodowlane nad mieszańcami heksaploidalnego owsa  
*Avena sativa* L. × *Avena sterilis* L. oraz formami rodzicielskimi”  
Promotor: prof. dr hab. Danuta Miazga  
Recenzenci: prof. dr hab. Stanisława Rogalska  
prof. dr hab. Czesław Tarkowski

## 3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:

- |                |  |
|----------------|--|
| 2002 - 2004    | specjalista inżynierijno-techniczny, Instytut Genetyki i Hodowli Roślin, Akademia Rolnicza w Lublinie (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie)                          |
| 2004 - 2005    | asystent, Instytut Genetyki i Hodowli Roślin, Akademia Rolnicza w Lublinie, (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie)  |
| 2005 - obecnie | adiunkt, Instytut Genetyki i Hodowli Roślin, Akademia Rolnicza w Lublinie, (obecnie Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie) |

**4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311):**

**a) Tytuł osiągnięcia naukowego:**

jednotematyczny cykl publikacji pt.:

**Analiza wirulencji *Puccinia coronata* f.sp. *avenae* w Polsce  
oraz identyfikacja nowych genów odporności na rdzę koronową w dzikich  
tetra- i haksaploidalnych gatunkach z rodzaju *Avena***

**b) Publikacje składające się na osiągnięcie naukowe:**

**O.1.** Paczos-Grzęda E.\*, Okoń S., Koroluk A., Kowalczyk K. 2014. Ocena odporności na rdzę koronową nowych i historycznych polskich odmian owsa zwyczajnego. Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis. Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica T. 30, 85-92.

(MNiSW – 5 pkt, udział 85%)

**O.2.** Róg S., Paczos-Grzęda E.\*, Koroluk A., Okoń S., Ostrowska A., Erdzik P., Chrząstek M., Gruszecka D., Kowalczyk K. 2015. Efektywność genów odporności na rdzę koronową u owsa zwyczajnego w stosunku do patotypów *Puccinia coronata* występujących w centralnej i południowo-wschodniej Polsce w latach 2010-2011. Annales UMCS sec. E, Agricultura 2015 Vol. 70 Nr 2, 97-105.

(MNiSW – 9 pkt, udział 70%)

**O.3.** Sowa S., Paczos-Grzęda E.\*, Koroluk A., Okoń S., Ostrowska A., Ociepa T., Chrząstek M., Kowalczyk K. 2016. Resistance to *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* in *Avena magna*, *A. murphyi*, and *A. insularis*. Plant Disease Vol. 100 No 6, 1184-1191.

(MNiSW – 35 pkt, IF = 3,192, udział 70%)

**O.4.** Sowa S., Paczos-Grzęda E.\* 2017. *Puccinia coronata* f.sp. *avenae* virulence in south-eastern Poland in 2014. Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica. 336(43)3 157-166.

(MNiSW – 10 pkt, udział 75%)

**O.5.** Paczos-Grzęda E.\*, Sowa S., Koroluk A., Langdon T. 2018. Characteristics of resistance to *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* in *Avena fatua* L. Plant Disease, Vol. 102, No 12, 2616-2624.

(MNiSW – 35 pkt, IF = 2,941, udział 70%)

**O.6.** Paczos-Grzęda E.\*, Sowa S., Boczkowska M., Langdon T. 2019. Detached leaf assays for resistance to crown rust reveal diversity within populations of *Avena sterilis* L. Plant Disease, doi.org/10.1094/PDIS-06-18-1045-RE

(MNiSW – 35 pkt, IF = 2,941, udział 75%)

**O.7.** Kebede A.Z., Friesen-Enns J.R., Gnanesh B.N., Menzies J.G., Mitchell Fetch J.W., Chong J., Beattie A.D., Paczos-Grzęda E., McCartney C.A.\* 2019. Mapping Oat Crown Rust Resistance Gene *Pc45* Confirms Association with *PcKM*. G3: Genes, Genomes, Genetics, doi.org/10.1534/g3.118.200757

(MNiSW – 30 pkt, IF = 2,742, udział 10%)

**O.8. Paczos-Grzęda E.\***, Sowa S. 2019. Virulence structure and diversity of *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* P. Syd. & Syd. in Poland during 2013-2015. Plant Disease, doi.org/10.1094/PDIS-10-18-1820-RE

(MNiSW – 35 pkt, IF = 2,941, udział 75%)

\*Autor korespondencyjny

Suma punktów według wykazu MNiSW zgodnie z rokiem opublikowania wynosi **194**. Sumaryczny IF publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego według roku opublikowania wynosi **14,757**.

### c) Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników:

W latach 2010 - 2018 prowadziłam prace badawcze mające na celu analizę wirulencji *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* w Polsce oraz identyfikację efektywnych na terenie kraju genów odporności na rdzę koronową, a także poszukiwałam nowych genów odporności w tetraploidalnych i heksaploidalnych gatunkach z rodzaju *Avena*. Uzyskane wyniki opracowałam i opublikowałam jako cykl ośmiu powiązanych tematycznie, oryginalnych prac naukowych (**O.1 – O.8**). Uznając te publikacje za najważniejsze osiągnięcie w mojej dotychczasowej działalności naukowej przedkładam je jako podstawę ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

### WPROWADZENIE

Owies zwyczajny (*Avena sativa* L.) jest wtórną rośliną uprawną, co oznacza, że początkowo towarzyszył uprawom zbóż pierwotnych (pszenica, jęczmień) jako chwast segetalny. W Europie zaczęto go uprawiać ok. 2000 lat p.n.e., gdzie został sprowadzony z Azji. W miarę rozprzestrzeniania się upraw z południa na północ kontynentu, a więc pogarszania się warunków glebowo – klimatycznych, zaczął zyskiwać na znaczeniu, gdyż charakteryzował się lepszymi zdolnościami przystosowawczymi niż zboża pierwotne. Najstarsze ślady owsa na ziemiach polskich, datowane na 700 r. p.n.e., odnaleziono w Biskupinie k. Żnina. Na większą skalę owies zaczęto uprawiać w Polsce dopiero w VIII w. (Górny 2005).

Na początku ubiegłego stulecia owies był jednym z najczęściej zasiewanych na świecie zbóż. Obecnie uprawiany jest na znacznie mniejszym areale ok. 10,2 mln ha, co stanowi 4,7% powierzchni zajmowanej przez pszenicę (218 mln ha) (www.fao.org). W Polsce jeszcze przed II wojną światową owies uprawiano na obszarze 1 mln ha, w latach 60. XX w. na ponad 1,5 mln ha, obecnie natomiast mimo swoich cennych walorów żywieniowych jest uprawiany na powierzchni nie przekraczającej 0,5 mln ha (www.fao.org). W przeszłości swoją popularność zawdzięczał głównie wykorzystaniu w żywieniu koni, jednak mechanizacja rolnictwa i transportu znacznie wpłynęła na spadek pogłowia tych zwierząt, przez co zmniejszyła się także produkcja owsa (Kowalczyk i Ratajczak 1995). Zboże to odznacza się dobrymi właściwościami fitosanitarnymi, konkurencyjnością wobec chwastów, ma niewielkie wymagania cieplne i glebowe, a jego uprawa wiąże się z niskimi nakładami finansowymi (Budzyński 1999). Ziarno owsa ma wyjątkowo wysoką wartość fizjologiczno-żywnościową, profilaktyczno-dietetyczną, leczniczą, a także szerokie zastosowania przemysłowe (Zarzecka i in. 2015). Wyprodukowane ziarno w 80% wykorzystywane jest na paszę, w 15% na materiał siewny, a reszta przeznaczona jest na cele konsumpcyjne (Górny 2005). Liczne składniki bioaktywne

stosowane są w przemyśle kosmetycznym i chemicznym, a także farmaceutycznym jako komponenty leków (Kawka i Achremowicz 2014; Zarzecka i in. 2015).

Owies zwyczajny należy do rodzaju *Avena* L., podplemienia *Aveninae* Presl., plemienia *Aveneae* Dumort, podrodziny *Pooideae* Macfarlane & Watson, rodziny *Poaceae* Barnh. (Frey, Rutkowski 2002). Rodzaj *Avena* obejmuje gatunki o podstawowej liczbie chromosomów  $x=7$ . Rozpoznano trzy poziomy ploidalności: diploidalny ( $2n=2x=14$ ), tetraploidalny ( $2n=4x=28$ ) i heksaploidalny ( $2n=6x=42$ ) (Rajhathy i Thomas 1974). Według systematyki uaktualnionej przez Zellera (1998), rodzaj *Avena* L. obejmuje 31 gatunków, w tym 16 diploidalnych, 8 tetraploidalnych i 7 heksaploidalnych. Poszczególne gatunki przyporządkowano do siedmiu sekcji: *Ventricosa*, *Agraria*, *Ethiopica*, *Pachycarpa Tenuicarpa*, *Avena* i *Avenotrichon*. Wszystkie heksaploidy (AACDD) włączono do sekcji *Avena* (*A. atheranta* Presl, *A. fatua* L., *A. hybrida* Peterm, *A. occidentalis* Dur., *A. sativa* L., *A. sterilis* L., *A. trichophylla* C. Koch) (Zeller 1998). W oparciu o wyniki analiz cytologicznych mieszańców międzygatunkowych stwierdzono, że najbardziej spokrewnione z heksaploidami są tetraploidalne gatunki z sekcji *Pachycarpa* (*A. insularis* Ladiz., *A. magna* Murphy et Terrell, *A. murphyi* Ladiz.) (Ladizinsky 1998). Dzikie heksaploidy, jak również tetraploidy z sekcji *Pachycarpa*, z uwagi na brak lub słabo rozwinięte bariery krzyżowalności, są ważnym źródłem zróżnicowania genetycznego wykorzystywanym do ulepszania uprawnych odmian owsa przede wszystkim pod względem odporności na choroby (Leggett 1996).

Głównymi chorobami występującymi w owsie są rdza koronowa, mączniak prawdziwy oraz fuzariozy powodowane przez różne gatunki z rodzaju *Fusarium*. Spośród nich, chorobą najczęściej pojawiającą się na owsie, nie tylko w warunkach naszego kraju, ale również w centralnej i południowo-wschodniej Europie, basenie Morza Śródziemnego, Ameryce Płn. i Płd. oraz Australii jest rdza koronowa (Simons 1985, Sebesta i in. 2003, Nazareno i in. 2018). Straty plonu wywołane porażeniem mogą sięgać nawet 50% (Martinelli i in. 1994). Czynnikiem infekcyjnym jest, będący obligatoryjnym biotrofem, grzyb *Puccinia coronata* Cda. f.sp. *avenae* P. Syd. & Syd. (Simons 1985). Forma specjalna *avenae* atakuje wiele gatunków traw, ale nie poraża innych, poza owsem, gatunków zbóż. Gospodarzem pośrednim są krzewy różnych gatunków szakłaku (*Rhamnus*) oraz kruszyny pospolitej (*Frangula alnus*). Rozwojowi choroby sprzyjają wysoka temperatura, zwiększona wilgotność powietrza oraz nadmierne nawożenie azotowe (Simons 1985). Szczególnie silne porażenie dotyczy odmian późnych i częściej ma miejsce przy opóźnionych siewach. Grzyb może rozwijać się na wszystkich zielonych częściach roślin, głównie jednak liściach, pochwach liściowych i wiechach. Porażenie zmniejsza wydajność fotosyntezy, co prowadzi do znacznego zmniejszenia transportu węglowodanów do rozwijającego się ziarna, obniżając jego jakość. Infekcja osłabia rozwój słomy sprzyjając wyleganiu. Chore rośliny są również mniej tolerancyjne na suszę ze względu na zredukowany system korzeniowy (Simons 1985, Fetch i in. 2011, Nazareno i in. 2018).

Istnieją różne metody zapobiegania rdzy koronowej owsa, lecz żadna z nich nie jest w stanie zapewnić pełnej kontroli. Wśród nich można wyróżnić: zabiegi agrotechniczne (płodozmian, wczesny siew, eliminowanie żywicieli pośrednich), metody chemiczne (fungicydy systemiczne) oraz wprowadzanie odporności genetycznej (Sánchez-Martin 2012). Specyficzna rasowo odporność genetyczna warunkowana monogenicznie jest powszechnie stosowana u owsa w walce z rdzą koronową i, jak dotąd, jest najskuteczniejszym sposobem ochrony przed tą chorobą. Tworzenie odmian odpornych wiąże się z ciągłym poszukiwaniem nowych źródeł odporności, gdyż szybka ewolucja patogenu powoduje powstawanie nowych ras przełamujących odporność warunkowaną przez dotychczas efektywne geny (Park 2013). Pojawianie się nowych patotypów *P. coronata* powiązane jest z cyklem życiowym patogenu, który obejmuje rozmnażanie płciowe i bezpłciowe (Carson 2011). W fazie aseksualnej za zmiany wirulencji odpowiedzialne są mutacje i somatyczna rekombinacja, w seksualnej – rekombinacja mająca miejsce podczas mejozy (Park 2008, Park

i Wellings 2012). Wkład każdego etapu w ostateczne zróżnicowanie lokalnej populacji *P. coronata* jest trudny do ustalenia. Bardzo często przyczyną występowania nowych, odmiennych od dotychczasowych, patotypów są migracje zarodników – urediniospor, które wraz z wiatrem pokonują tysiące kilometrów i zmieniają strukturę lokalnych populacji grzyba (Fetch i in. 2011). Analizy zmian wirulencji populacji *P. coronata* powinny być prowadzone w sposób ciągły, ponieważ ich monitorowanie umożliwia dobór odpowiednich genów *Pc* do hodowli odpornościowej owsa.

W 2010 roku, kiedy rozpoczynałam badania dotyczące wirulencji *P. coronata* w Polsce ilość informacji na ten temat była znikoma i pochodziła z lat 80. i 90. (Mazaraki 1983, 1991, 1999). Przeprowadzona analiza i wykazanie braku odporności polskich odmian owsa zwyczajnego na rdzę koronową, utwierdziły mnie w przekonaniu o słuszności podjętej tematyki badawczej. W związku z tym od 2013 roku prowadziłam już systematyczne badania struktury populacji *P. coronata* w Polsce, analizowałam efektywność znanych genów odporności w kontekście możliwości ich wykorzystania w krajowej hodowli owsa, poszukiwałam nowych, bardziej skutecznych źródeł warunkujących odporność na ten patogen, a w ramach prowadzonego projektu badawczego finansowanego przez MRiRW oraz we współpracy z ośrodkami zagranicznymi identyfikowałam markery molekularne dla genów *Pc* i lokalizowałam je na mapach genetycznych owsa.

## CELE PROWADZONYCH BADAŃ

- Ocena odporności historycznych i współczesnych polskich odmian owsa na rdzę koronową (**O.1**).
- Analiza wirulencji populacji *P. coronata* występującej na terenie Polski oraz zmian zachodzących w jej strukturze (**O.2, O.4, O.8**).
- Identyfikacja efektywnych na terenie Polski genów *Pc* warunkujących odporność owsa na rdzę koronową oraz wskazanie genów o największym potencjale, możliwych do wykorzystania w programach hodowlanych (**O.2, O.4, O.8**).
- Identyfikacja nowych, efektywnych genów odporności na rdzę koronową w dzikich tetra- i haksaploidalnych gatunkach z rodzaju *Avena* (**O.3, O.5, O.6**).
- Identyfikacja markerów SNP oraz mapowanie genu *Pc45* (**O.7**).

## OCENA ODPORNOŚCI NA RDZĘ KORONOWĄ POLSKICH ODMIAN OWSA ZWYCZAJNEGO

**O.1. Paczos-Grzęda E.\***, Okoń S., Koroluk A., Kowalczyk K. 2014. Ocena odporności na rdzę koronową nowych i historycznych polskich odmian owsa zwyczajnego. *Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis. Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica* T. 30, 85-92.

Dla hodowli nowych odmian owsa charakterystyka i ocena odporności na rdzę koronową już istniejących odmian odgrywa bardzo ważną rolę, gdyż pozwala wytyczyć dalszy kierunek prac hodowlanych. W pracy **O.1** scharakteryzowano odporność na rdzę koronową 78 współczesnych i historycznych polskich odmian owsa zwyczajnego. Najstarsze z badanych odmian zostały wpisane do krajowego rejestru w roku 1923. Oceniano również odmiany nowe, z których ostatnie wpisano do rejestru w roku 2010. W warunkach naturalnej infekcji polowej zaobserwowano bardzo silne porażenie przez rdzę koronową. Całkowitą odporność na lokalną populację *P. coronata* wykazały

jedynie odmiany Borowiak i Celer, zaś niewielkie porażenie, które w skali 0-9 (McNeal i in. 1971) oceniono jako 3 stwierdzono dla odmian Grajcar, Sprinter, Bachmat, Arden i Stoper. Pozostałe odmiany charakteryzowały się średnią lub całkowitą wrażliwością. Z lokalnej populacji rdzy w warunkach laboratoryjnych wyprowadzono izolaty, spośród których wybrano jeden - PK2010. Przeprowadzone w stadium siewki testy żywiciel-patogen wykazały awirulencję tego izolatu względem 3 nowych polskich odmian: Borowiak, Celer i Krezus.

Zaobserwowane u odmian Bachmat, Arden i Stoper zjawisko odporności roślin dorosłych (APR - adult plant resistance) zostało opisane przez Zadoks (1961) jako odporność, która nie ujawnia się w stadium siewki. APR jest typem nadwrażliwości. Siewki wykazują porażenie na poziomie 3-4 w czterostopniowej skali Murphy'ego (1935), zaś rośliny dorosłe zaledwie 1-3 w dziewięciostopniowej skali McNeal i in. (1971). Niewiele wiadomo na temat mechanizmu tego zjawiska i czynników, które determinują jego ekspresję. Niemniej jednak odporność tego typu utrzymuje się w odmianie zdecydowanie dłużej niż odporność warunkowana pojedynczymi genami (Denissen 1993). Jej wadą jest trudność monitorowania w kolejnych pokoleniach z uwagi na poligeniczny sposób dziedziczenia.

Uzyskane wyniki wskazują, że polskie odmiany owsa zwyczajnego, z wyjątkiem odmian Celer i Borowiak, nie posiadają efektywnych genów odporności na rdzę koronową, dlatego też wprowadzanie genów *Pc* powinno być jednym z podstawowych elementów hodowli twórczej tego gatunku w Polsce.

## WIRULENCJA *Puccinia coronata* W POLSCE

**O.2.** Róg S., Paczos-Grzęda E.\*, Koroluk A., Okoń S., Ostrowska A., Erdzik P., Chrzęstek M., Gruszecka D., Kowalczyk K. 2015. Efektywność genów odporności na rdzę koronową u owsa zwyczajnego w stosunku do patotypów *Puccinia coronata* występujących w centralnej i południowo-wschodniej Polsce w latach 2010-2011. *Annales UMCS sec. E, Agricultura* 2015 Vol. 70(2), 97-105.

**O.4.** Sowa S., Paczos-Grzęda E.\* 2017. *Puccinia coronata* f.sp. *avenae* virulence in south-eastern Poland in 2014. *Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica*. 336(43)3 157-166.

**O.8.** Paczos-Grzęda E.\*, Sowa S. 2019. Virulence structure and diversity of *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* P. Syd. & Syd. in Poland during 2013-2015. *Plant Disease* DOI:doi.org/10.1094/PDIS-10-18-1820-RE

Celem pracy **O.2** była ocena efektywności genów warunkujących odporność na izolaty *P. coronata* wyprowadzone z populacji zebranych w centralnej i południowo-wschodniej Polsce w latach 2010-2011. W testach żywiciel-patogen wykorzystano 31 linii referencyjnych owsa z pojedynczymi genami odporności na rdzę koronową oraz 6 izolatów *P. coronata*. Testy żywiciel-patogen prowadzono zgodnie metodyką Hsam i in. (1997). Po upływie 10 dni od inokulacji przeprowadzono ocenę porażenia liści w skali 0-4 (Murphy 1935). „0” oznaczało brak kolonii ze zmianami nekrotycznymi i chlorotycznymi, „1” – małe kolonie otoczone zmianami nekrotycznymi i chlorotycznymi, „2” – małe i średnie kolonie otoczone zmianami chlorotycznymi, „3” – średnie kolonie ze zmianami chlorotycznymi, „4” – duże kolonie bez zmian nekrotycznych i chlorotycznych. Analizowane izolaty różniły się między sobą wirulencją w stosunku do 21 z 31 linii referencyjnych. Przeprowadzone badania wykazały, że najbardziej efektywne w stadium siewki były geny *Pc14*, *Pc39*, *Pc51*, *Pc52*, *Pc53*, *Pc57*, *Pc60*, *Pc68*, *Pc71* i *Pc91*.

W pracy **O.4** kontynuowano badania nad wirulencją izolatów *P. coronata* pochodzących z centralnej i południowo-wschodniej Polski. Badania dotyczyły wirulencji 12 populacji zebranych



latem 2014 roku w dziewięciu lokalizacjach w stosunku do 27 linii referencyjnych z różnymi genami odporności. Testy żywiciel-patogen wykazały, że populacje *P. coronata* pochodzące z różnych regionów uprawy owsa były zróżnicowane i charakteryzowały się wirulencją względem 2 do 15 genów *Pc*. Żadna z testowanych populacji *P. coronata* nie przełamała odporności warunkowanej genami: *Pc50*, *Pc52*, *Pc59*, *Pc60*, *Pc71*, *Pc91* oraz *Pc94*. Sporadycznie identyfikowano wirulencję w stosunku do genów *Pc48*, *Pc68* i *Pc70*. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że populacje rdzy koronowej występujące w centralnej i południowo-wschodniej Polsce charakteryzuje zróżnicowana wirulencja, która nie jest w pełni skorelowana z miejscem pochodzenia. Badania wykazały również, że wiele znanych genów odporności na *P. coronata* jest nadal efektywnych. Geny te mogą być wprowadzane i kumulowane w polskich odmianach owsa, w celu zwiększenia spektrum odporności na rdzę koronową oraz jej trwałości.

Kompleksowe badania wirulencji izolatów *P. coronata* wyprowadzonych z populacji zebranych w latach 2013-2015 na terenie całej Polski opublikowano w pracy **O.8** Przedmiotem badań były 162 izolaty. Próbkę *P. coronata* pozyskano z pól uprawnych trzech spółek hodowli owsa w Strzelcach, Polanowicach i Kopaszewie oraz Gospodarstwa Doświadczalnego UP w Lublinie w Czesławicach, a także z poletek doświadczalnych COBORU rozmieszczonych na terenie całego kraju. Każda próbka została zebrana z podatnych na rdzę koronową odmian referencyjnych Bingo, Zuch i Krezus. Analiza wirulencji poszczególnych izolatów względem 26 linii referencyjnych z genami *Pc* warunkującymi odporność na *P. coronata*, prowadzona w stadium siewki z wykorzystaniem testów żywiciel – patogen wykazała bardzo duże zróżnicowanie, ze wskaźnikami Simpson'a i Evenness wynoszącymi 0,99. 162 izolaty reprezentowały bowiem aż 156 patotypów wykazujących wirulencję w stosunku do 1 - 16 genów *Pc*. Nie stwierdzono dominującego patotypu w żadnym z analizowanych lat. Średnio pojedynczy izolat przełamywał odporność warunkowana przez 5-7 genów. Średni poziom wirulencji w każdym roku badań był bardzo zbliżony i wynosił ok. 21%, wahając się od 8% do 54%, 4% do 62% oraz od 4% do 54% w kolejnych latach. Duże zróżnicowanie patotypów *P. coronata* nie jest zaskakujące i potwierdza wyniki prezentowane przez innych autorów (Chong i in. 2008, Menzies i in. 2015). Pomimo dużego zróżnicowania, poziom wirulencji izolatów *P. coronata* występujących w Polsce jest stosunkowo niski i wynika prawdopodobnie z niewielkiego wykorzystania genów *Pc* w polskich odmianach owsa, a to oznacza, że wiele źródeł odporności jest nadal skutecznych na terenie kraju. Żaden z analizowanych dotychczas izolatów nie przełamywał odporności linii z genem *Pc91*, a tylko pojedyncze były wirulentne w stosunku do genów *Pc71* i *Pc52*. Odporność zapewniały również geny *Pc50*, *Pc51*, *Pc59*, *Pc60* i *Pc70*. Wysoką efektywność wyżej wymienionych genów obserwowano również w uprzednio prowadzonych badaniach (**O.2**, **O.4**). W programach hodowli owsa należy unikać wprowadzania wyżej wymienionych genów *Pc* do odmian owsa pojedynczo lub stosowania tych samych kombinacji genów w wielu odmianach. Takie praktyki wywarłyby silną presję selekcyjną na populację patogenu prowadząc do powstania dominujących ras i powodując gwałtowny wzrost wirulencji w stosunku do wykorzystywanych genów (Chong i in. 2008).

Chociaż poznanie zróżnicowania i dynamiki zmian w strukturze populacji patogenu ma kluczowe znaczenie dla opracowania metod kontroli, niewiele wiadomo na temat wirulencji *P. coronata* w Europie. Ostatnie szczegółowe badania zjadliwości rdzy koronowej na terenie Europy zostały przeprowadzone w latach 1992-1993 (Šebesta i in. 2003). Kolejne badania dotyczyły populacji *P. coronata* w Republice Czeskiej w latach 2004-2006 (Jiráková i Hanzalová 2008). Zdolność zarodników do pokonywania dużych odległości, stosunkowo duży areal uprawy owsa w Polsce, a ponadto dostępność dzikich gatunków z rodzaju *Avena* oraz traw, które również mogą być żywicielem ostatecznym dla *P. coronata* f. sp. *avenae*, sprawiają, że wirulencja obserwowana w Polsce, a także wynikająca z niej efektywność genów *Pc* powinna być reprezentatywna dla większości Europy Środkowej i nie tylko.

## POSZUKIWANIE NOWYCH GENÓW ODPORNOŚCI W DZIKICH GATUNKACH Z RODZAJU *AVENA*

**O.3.** Sowa S., Paczos-Grzęda E.\*, Koroluk A., Okoń S., Ostrowska A., Ociepa T., Chrzęstek M., Kowalczyk K. 2016. Resistance to *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* in *Avena magna*, *A. murphyi*, and *A. insularis*. *Plant Disease* Vol. 100 No 6, 1184-1191.

**O.5.** Paczos-Grzęda E.\*, Sowa S., Koroluk A., Langdon T. 2018. Characteristics of resistance to *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* in *Avena fatua* L. *Plant Disease*, Vol. 102, No 12, 2616-2624

**O.6.** Paczos-Grzęda E.\*, Sowa S., Boczkowska M., Langdon T. 2019. Detached leaf assays for resistance to crown rust reveal diversity within populations of *Avena sterilis* L. *Plant Disease*, doi.org/10.1094/PDIS-06-18-1045-RE

W rodzaju *Avena* odkryto ponad 100 genów *Pc* warunkujących odporność na *P. coronata* (Chong i in. 2011, Gnanesh i in. 2013). Wiele z tych genów pochodzi z gatunków heksaploidalnych *A. sativa* L. (*Pc3c*, *Pc4c*, *Pc6c*, *Pc6d*, *Pc9*, *Pc13*, *Pc22*, *Pc95*, *Pc96*) i *A. byzantina* Koch. (*Pc1-Pc8*, *Pc9c*, *Pc10-Pc12*, *Pc14*, *Pc21*), ale najczęściej zidentyfikowano w ekotypach *A. sterilis* L. skolekcjonowanych w latach 60. i 70. XX wieku w Izraelu i innych krajach śródziemnomorskich (Simons i in. 1978, Šebesta i in. 2003, Gnanesh i in. 2014). Odporne genotypy znaleziono również wśród diploidów: *A. atlantica* Baum et Fedak, *A. damascena* Rajhathy et Baum, *A. hirtula* Lag., *A. longiglumis* Dur., *A. strigosa* Schreb., i *A. wiestii* Steud, a także tetraploidów: *A. agadiriana* Baum et Fedak, *A. barbata* Pott ex Link, *A. magna* Murphy et Terrell i *A. murphyi* Ladiz (Carson 2009, 2010, Aung i in. 2010, Cabral i in. 2011, Tan i Carson 2013, Cabral i Park 2014, Rines i in. 2018). Geny odporności szczególnie często występują w diploidalnym gatunku *A. strigosa* (AsAs) (*Pc15*, *Pc16*, *Pc17*, *Pc19*, *Pc23*, *Pc30*, *Pc37*, *Pc81*, *Pc82*, *Pc83*, *Pc84*, *Pc85*, *Pc86*, *Pc87*, *Pc88*, *Pc89*, *Pc90*, *Pc94*) (Cabral i in. 2014, CDL 2017) i tetraploidalnym *A. barbata* (AABB) (Carson 2009, 2010). Wszystkie diploidalne i tetraploidalne gatunki o genomach AABB należą do trzeciorzędowej puli genowej, co oznacza, że introgresja tych genów do heksaploidalnego uprawnego owsa jest problematyczna z powodu różnic w poziomie ploidalności i braku homologii chromosomów (Jellen i Leggett 2006). Praktyczne wykorzystanie w hodowli odpornościowej owsa genów *Pc* z tych gatunków jest w konsekwencji pracochłonne i pomimo dużej liczby znanych genów odporności w trzeciorzędowej puli genowej, tylko *Pc23* i *Pc94*, pochodzące z *A. strigosa*, zostały wprowadzone do *A. sativa* (Dyck i Zillinsky 1963, Aung i in. 1996). W związku z powyższym w programach hodowlanych *A. sativa* i *A. byzantina* w Ameryce Płn., Europie i Australii wykorzystywano głównie geny *Pc* pochodzące z *A. sterilis* (*Pc38*, *Pc39*, *Pc48*, *Pc50*, *Pc58*, *Pc39*, *Pc60*, *Pc61* i *Pc68*) (Sebesta i in. 2003, Gnanesh i in. 2014).

Jednym z najbardziej efektywnych genów odporności na rdzę koronową w Polsce (**O.2**, **O.4**, **O.8**) i na świecie (Chong i in. 2008, McCartney i in. 2011, Menzies i in. 2015) jest *Pc91*. Dawcą *Pc91* jest tetraploid z sekcji *Pachycarpa*, o genomach AACC, *A. magna* CI 8330 (Rooney i in. 1994, McMullen i in. 2005). Formy heksaploidalne z tym genem otrzymano poprzez skrzyżowanie odpornego tetraploida z diploidem *A. longiglumis* CW57, który inicjuje parowanie chromosomów homeologicznych. Następnie podwojono liczbę chromosomów u uzyskanych mieszańców (Rooney i in. 1994). Uzyskane heksaploidy umożliwiły bezpośrednie wykorzystanie tego genu w hodowli owsa. *Pc91* stosowany zarówno pojedynczo, jak i w połączeniu z innymi genami jest niezwykle silnym i skutecznym źródłem odporności (Chong i in. 2008, McCartney i in. 2011, Park 2013, Menzies i in. 2015). Tetraploidy z sekcji *Pachycarpa* (*A. magna*, *A. murphyi* i *A. insularis*) należą do

drugorzędowej puli genowej i nie są najłatwiej dostępnym źródłem odporności, jednak uwzględniając wysoką efektywność genu *Pc91* w pracy **O.3** przeprowadzono ocenę odporności na *P. coronata* gatunków należących do tej sekcji. Materiał do badań sprowadzono z banków genów lub instytucji naukowych w Stanach Zjednoczonych, Kanadzie, Rosji, Wielkiej Brytanii i Polsce w latach 2006-2009. Przed przystąpieniem do oceny odporności wszystkie obiekty poddano analizie poziomu ploidalności z wykorzystaniem cytometrii przepływowej. Siedem, spośród 92 badanych form było heksaploidami.

Do oceny odporności na rdzę koronową wykorzystano 6 izolatów *P. coronata* wyprowadzonych z populacji patogenu zebranych w Polsce w latach 2010-2014. Izolaty te charakteryzowały się zróżnicowaną wirulencją, którą określono względem 35 linii referencyjnych z genami *Pc*. Najbardziej wirulentny z izolatów przełamywał aż 25 spośród 35 testowanych genów, pozostałe od 10 do 18. Żaden z wykorzystanych w badaniach izolatów nie był wirulentny w stosunku do linii z genami odporności *Pc52*, *Pc59*, *Pc60*, *Pc63*, *Pc71* oraz *Pc91*. Wynikało to z braku wirulencji polskich populacji *P. coronata* względem tych genów (**O.2**, **O.4**, **O.8**).

W teście żywiciel-patogen spośród 92 przeanalizowanych obiektów 58,7% było odpornych na co najmniej jeden patotyp *P. coronata*. Jednocześnie zaobserwowano, że 37% badanych genotypów reagowało nierównomiernie, co wskazywało na heterogeniczność obiektów. Całkowitym brakiem odporności wykazały się genotypy *A. insularis*, z kolei 50,8% (30) form *A. magna* i 77,3% (17) *A. murphyi* było odpornych na co najmniej jeden izolat. Najwyższy poziom odporności zaobserwowano w przypadku form heksaploidalnych, gdzie 5 spośród 7 badanych obiektów wykazało odporność na 4 do 6 izolatów. Odporność na wszystkie testowane izolaty stwierdzono u *A. murphyi* (Cc 7190, PI 657600) oraz u heksaploidów PI 657615, PI 657616 i PI 657618.

Celem pracy (**O.3**) była również identyfikacja nowych genów odporności. Analizując profile infekcji każdego z badanych genotypów określone na podstawie porażenia 6 izolatami stwierdzono występowanie 29 różnych wzorów, spośród których 10 odpowiadało znanym genom odporności i umożliwiała postulowanie tych genów w 19 badanych genotypach. Pozostałe profile infekcji wskazywały na nowe, niezidentyfikowane geny. Postulowanie genów na podstawie profili infekcji nie przesądza o obecności tych genów w analizowanych formach. Obserwowana odporność może być warunkowana poligenicznie i może być efektem współdziałania kilku genów. Aby potwierdzić identyfikację nowych genów należałoby przeprowadzić krzyżowania z formami wrażliwymi i określić stosunek rozszczepleni w pokoleniu  $F_2$  oraz przeprowadzić krzyżowania z liniami o znanych genach odporności. Niestety w przypadku odporności zidentyfikowanej u tetraploidów jakiegokolwiek prace nad genetycznym uwarunkowaniem obserwowanej odporności mogą być prowadzone dopiero po wprowadzeniu jej do form heksaploidalnych. Dlatego też na szczególną uwagę zasługują zidentyfikowane w pracy **O.3** heksaploidy PI 657615, PI 657616 oraz PI 657618, które charakteryzowały się odpornością na wszystkie zastosowane izolaty. Należą one do pierwszorzędowej puli genowej heksaploidalnego uprawnego owsa i w efekcie ich krzyżowania z *A. sativa* uzyskano w pełni płodne mieszańce możliwe do wykorzystania w analizie uwarunkowań genetycznych odporności lub w hodowli nowych odmian.

Jak wspomniano wyżej, najłatwiej dostępne źródło korzystnych alleli dla *A. sativa* stanowią wszystkie gatunki heksaploidalne. Należą do nich *A. sterilis* L., *A. fatua* L., *A. ludoviciana* Durieu i *A. occidentalis* Durieu. Najbardziej kosmopolitycznym ze wszystkich gatunków rodzaju *Avena* jest *A. fatua* uważany jednocześnie za jeden z dziesięciu najbardziej uciążliwych jednorocznych chwastów upraw zbożowych na świecie (Holm i in. 1991, Loskutov i Rines 2011). Jego rozpowszechnienie w zróżnicowanych środowiskach i częste występowanie populacji odpornych na herbicydy (Thill i in. 1994, Owen i Powles 2009, Adamczewski i in. 2013) wskazują na dużą zdolność przystosowywania

się do stresów biotycznych i abiotycznych, ale, co zaskakujące, nie rozpatrywano dotychczas *A. fatua* jako potencjalnego źródła genów odporności na rdzę koronową. Światowe kolekcje tego gatunku obejmujące tysiące obiektów, mogą być bardzo bogatym rezerwuarem nowych genów *Pc* dla hodowli odpornościowej. Przedmiotem analiz podjętych w publikacji **O.5** były 204 genotypy gatunku *A. fatua* pochodzące z 29 krajów Ameryki Północnej i Południowej, Azji, Europy i Afryki, których ziarniaki sprowadzono z banków genów NSGC-USDA (Aberdeen, USA) oraz z Krajowego Centrum Roślinnych Zasobów Genowych (IHAR PIB, Radzików). Do testów żywiciel-patogen wybrano 5 izolatów *P. coronata* pochodzących z Kanady i Polski o zróżnicowanych profilach wirulencji (patotypach), które określono dla każdego izolatu na podstawie testów żywiciel-patogen względem 34 linii referencyjnych z głównymi genami odporności *Pc*. Izolaty *P. coronata* zastosowane w tym badaniu dobrano tak, aby przełamywały odporność warunkowaną przez jak największą liczbę genów *Pc*. Następnie, dla każdego genu, zdefiniowano profil infekcji (IP). Aby wyselekcjonować genotypy *A. fatua* o odporności na rdzę koronową uwarunkowanej dotychczas nie opisanymi genami, profile infekcji linii referencyjnych, podobnie jak w przypadku tetraploidów, porównano z IP przypisanymi do poszczególnych obiektów *A. fatua*. Ponadto wyniki przekształcono w macierz binarną w celu przeprowadzenia analizy hierarchicznej. W tym celu reakcję na porażenie podzielono na dwie klasy: fenotypy opisane jako S (wrażliwe) i MS (średnio wrażliwe) uznano za podatne, zaś pozostałe za odporne.

85% badanych genotypów *A. fatua* wykazało heterogeny wzór infekcji, co oznacza, że obserwowano występowanie zróżnicowanej reakcji pojedynczych siewek w obrębie genotypu na porażenie. 61% (125 obiektów) było wrażliwych lub umiarkowanie wrażliwych na wszystkie izolaty patogenu. Wśród pozostałych 79 genotypów, zaledwie sześć obiektów, z których dwa pochodziły ze Stanów Zjednoczonych (PI 545361, 545479), a cztery z Kenii (PI 411460, PI 411463, PI 411466, PI 411468) wykazało jednorodną odporność na dwa izolaty (94(63) i CR257). Wszystkie siewki PI 411476, genotypu skolekcjonowanego w Turcji, były odporne na izolat CR230. W kolejnych 6 przypadkach stwierdzono zróżnicowaną odporność wszystkich siewek na jeden do czterech izolatów. Oznacza to, że każda z siewek CIav 4643 pochodzącego z Argentyny, PI 411458, PI 411461, PI 411465 i PI 411469 skolekcjonowanych w Kenii, oraz PI 365611 pochodzącego z Egiptu charakteryzowała się określonym, niemniej jednak różnym, poziomem odporności na porażenie *P. coronata*. W przypadku 5 genotypów PI 411458, PI 411465, PI 411469, PI 365611 oraz PL 502694 (Iran) zidentyfikowano od jednej do 4 siewek odpornych na 3 izolaty. Najwyższym poziomem odporności charakteryzowały się dwie siewki PI 365611, które były odporne na 4 spośród pięciu testowanych izolatów (51(22), CR230, CR241, CR257).

Na podstawie reakcji siewek na izolaty zastosowane w badaniu określono 18 profili infekcji. Sześć z 18 wzorów pozwoliło na postulowanie obecności znanych genów *Pc*, w tym *Pc14*, *Pc35*, *Pc36*, *Pc38*, *Pc39*, *Pc48*, *Pc55*, *Pc61*, *Pc63*, *Pc70*, *Pc71*, *Pc94* i *Pc103-1*. Pozostałe IP wskazywały na występowanie potencjalnie nowych genów odporności. Na podstawie analizy UPGMA, odporne formy przyporządkowano do sześciu głównych skupień grupujących obiekty o podobnych wzorach IP, przy czym genotypy o najwyższym poziomie odporności znalazły się w grupach I, II oraz VI i to właśnie one powinny być rozpatrywane jako potencjalne źródła nowych genów *Pc*. Rozpatrując pochodzenie geograficzne analizowanych materiałów, najwyższy odsetek siewek odpornych stwierdzono w genotypach *A. fatua* pochodzących z Kenii i Egiptu. Formy odporne identyfikowano również wśród materiałów pochodzących z Argentyny, Chile i Turcji (15%) oraz z Maroka, Urugwaju, Iraku, Indii, Serbii, Iranu i Stanów Zjednoczonych (10%). Przyszłe prace wyjaśnią genetyczne podstawy obserwowanych tu odporności, a także potwierdzą ich potencjalną przydatność w hodowli odpornych odmian owsa.

W oparciu o dużą liczbę genów *Pc* zidentyfikowanych w różnych dzikich gatunkach z rodzaju *Avena* wydaje się mało prawdopodobne, aby te zasoby zostały wyczerpane (Loskutov i Rines 2011, Gnanesh i in. 2014). Nazareno i in. (2018) twierdzą, że systematyczne badania zgromadzonych materiałów kolekcyjnych mogą doprowadzić do odkrycia nowych genów. Światowa kolekcja *Avena* składa się ze 131000 obiektów, przechowywanych przez 125 instytucji w 63 krajach i jest ósmą najliczniejszą kolekcją roślin uprawnych po pszenicy, ryżu, jęczmieniu, kukurydzy, fasoli, sorgo i soi (Boczkowska i in. 2014). Wśród zgromadzonych obiektów aż 23000 reprezentują *A. sterilis* L. Genotypy tego gatunku, pochodzące głównie z Izraela i innych krajów śródziemnomorskich, były źródłem 44, czyli niemal połowy, znanych genów *Pc*. Niektóre z tych genów zostały wprowadzone do odmian owsa (*Pc38*, *Pc39*, *Pc48*, *Pc50*, *Pc58*, *Pc59*, *Pc60*, *Pc61* i *Pc68* (Simons i in. 1978, Sebesta i in. 2003, Gnanesh i in. 2014). Kolekcja *Avena* zgromadzona w KCRZG (IHAR PIB, Radzików) jest dziewiątą pod względem liczebności na świecie, zaś zbiory obejmujące gatunek *A. sterilis* plasują się na siódmym miejscu w światowym rankingu (Boczkowska i in. 2014). Większość genotypów *A. sterilis* pozyskano podczas polskich wypraw do Maroka i nie mają one swoich odpowiedników w innych kolekcjach. Dlatego też, w kolejnej pracy (O.6), wykorzystano ponownie test żywicielpatogen do wykrywania odporności na *P. coronata* we wcześniej niecharakteryzowanych pod tym kątem genotypach *A. sterilis* zgromadzonych w kolekcji KCRZG. Test przeprowadzono na fragmentach liści pochodzących z 10 siewek każdej z testowanych form *A. sterilis* wykorzystując 5 izolatów *P. coronata* o zróżnicowanej wirulencji: CR230, CR241 i CR257 z Kanady oraz 94U(63) i 51U(22) z Polski, a następnie porównano profile infekcji poszczególnych siewek z profilami infekcji 34 linii referencyjnych.

Na wstępnym etapie badań przeprowadzono ocenę odporności 21 obiektów *A. sterilis*. Zaobserwowano wówczas heterogeniczność niektórych form pod względem odporności na *P. coronata* i stwierdzono możliwość selekcji odpornych genotypów w obrębie oryginalnych akcesji pochodzących z banków genów. Awirulencję każdego z zastosowanych izolatów stwierdzono w stosunku do PL 51855a wyselekcjonowanego z PL 51855. Po skrzyżowaniu PL 51855a z wrażliwymi odmianami *A. sativa* stwierdzono segregację fenotypów odpowiadającą stosunkowi rozszczepień 3 odporne: 1 porażony, co wskazywało na obecność pojedynczego dominującego genu głównego. Równoległe prowadzone analizy wykazały, że *locus* to zapewnia odporność na ponad 50 innych izolatów rdzy i pod względem efektywności przewyższa wszystkie dotąd zidentyfikowane geny *Pc*.

Kolejny etap badań dotyczył 41 obiektów *A. sterilis* i był ukierunkowany na identyfikację zróżnicowanej odporności w ich obrębie, w związku z tym analizę przeprowadzono osobno dla każdej siewki, podobnie jak w przypadku *A. fatua* (O.5). Całkowite porażenie wszystkich siewek przez każdy z zastosowanych w teście izolatów zaobserwowano w 7 przypadkach, zaś pełną odporność na wszystkie izolaty stwierdzono w PL 51836 pochodzącym z Maroka. Wyrównaną odpowiedzią odpornościową na infekcję *P. coronata* charakteryzowały się również PL 51589 i PL 52110. Heterogeniczność poszczególnych siewek pod względem odporności w obrębie wszystkich pozostałych genotypów była powszechna. U kilku z nich (PL 51851, PL 51841, PL 51832, PL 51856) zaobserwowano złożoną odpowiedź częściową, która może zostać wykorzystana do rozwijania trwałej odporności u odmian.

Ocena profili infekcji poszczególnych siewek umożliwiła postulowanie u 78 z nich obecności 22 znanych genów *Pc*, zaś u 85 pozostałych jedenaście różnych profili wskazywało na obecność nowych genów. Jako, że wszystkie, poza dwoma (*Pc62*, *Pc91*), opisanymi dotychczas genami odporności *Pc* zidentyfikowano w genotypach nie pochodzących z Maroka (Gnanesh i in. 2014), dlatego odporność wszystkich testowanych w pracy genotypów jest potencjalnie nowa. Uzyskane wyniki wskazują, że różnorodność w obrębie genotypów *A. sterilis* zebranych w Maroku może być

bardzo cennym źródłem odporności na rdzę koronową i zapewnia nową zmienność genetyczną do stosowania w hodowli odpornościowej.

Ważnym aspektem, który pojawia się w pracach **O.3**, **O.5** i **O.6** jest naturalna heterogeniczność obiektów reprezentujących dzikie gatunki, zgromadzonych w bankach genów (Gregová i in. 1999, Tan i Carson 2013). Są to niejednorodne populacje, które należy traktować jako zbiór niejednakowych genotypów. Poziom zmienności fenotypowej w obrębie badanych form *A. fatua* wyniósł 85% (**O.5**), *A. sterilis* 75% (**O.6**), zaś u tetraploidów 37% (**O.3**). W przypadku *A. fatua*, *A. sterilis*, *A. magna* czy *A. murphyi* skłonność do formowania populacji zróżnicowanych pod względem odpowiedzi na infekcję wynika z doboru równoważącego. Zjawisko to występuje w naturalnych ekosystemach i polega na utrzymywaniu różnych zestawów alleli genów odporności u różnych osobników w populacji (Mundt i Browning 1985, Möller i Stukenbrock 2017). W środowiskach, w których patogeny są rozpowszechnione i zmienne, istnieje tendencja do tworzenia populacji heterogenicznych pod względem odporności. W ten sposób dobór naturalny faworyzuje zachowanie zróżnicowanych zestawów alleli, a przewaga genotypów gospodarza o niskim lub pośrednim poziomie odporności warunkowanym różnymi kombinacjami słabych genów lub alleli jest korzystna dla populacji gospodarza w perspektywie długoterminowej, gdyż nie wywiera zbyt silnej presji selekcyjnej na patogen i nie indukuje wzrostu jego wirulencji (Oates i in. 1983). Częściowa odporność na *P. coronata* może zostać wykorzystana do rozwijania stabilnej i trwałej odporności u odmian i powinna być rozważana jako obiecująca alternatywa dla głównych genów *Pc* nadających pełną, niemniej jednak krótkotrwałą, odporność.

## MAPOWANIE GENÓW ODPORNOŚCI NA RDZĘ KORONOWĄ

**O.7.** Kebede A.Z., Friesen-Enns J.R., Gnanesh B.N., Menzies J.G., Mitchell Fetch J.W., Chong J., Beattie A.D., Paczos-Grzęda E., McCartney C.A.\* 2019. Mapping Oat Crown Rust Resistance Gene *Pc45* Confirms Association with *PcKM. G3: Genes, Genomes, Genetics*, doi.org/10.1534/g3.118.200757

W latach 2013-2015 w ramach kierowanego przeze mnie projektu finansowanego przez MRiRW „Piramidyzacja genów odporności na rdzę koronową w genomie owsa oraz identyfikacja i lokalizacja markerów DNA dla tych genów”, wyprowadzono mieszańce wrażliwej na porażenie odmiany Kasztan z wszystkimi liniami referencyjnymi dla genów *Pc*. Materiały te doprowadzono do pokolenia F<sub>2</sub> zgodnie z zasadami prowadzenia populacji mapujących i przesłano do Morden Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada w Kanadzie. Jedną z wyprowadzonych populacji mapujących (Kasztan × *Pc45*) została wykorzystana w pracy **O.7**.

*Pc45* jest genem głównym odporności na rdzę koronową. Został zidentyfikowany w *A. sterilis* pochodzącym z Izraela na początku lat 70. XX w. Gen ten przeniesiono do owsa zwyczajnego i od 1974 r. linię z tym genem stosowano jako referencję do charakterystyki ras *P. coronata*. Efektywność *Pc45* w warunkach Polski jest niewielka, gdyż większość izolatów jest wirulentnych w stosunku do tego genu. Poprzednie badania (McMullen i in. 2005, Gnanesh i in. 2015) wskazywały na związek między wirulencją w stosunku do genu *Pc45* oraz *PcKM* (genem odporności zidentyfikowanym w odmianach Kame i Morton), dlatego też podjęto badania w celu potwierdzenia związku między tymi genami. W badaniach wykorzystano populacje mapujące uzyskane w wyniku krzyżowania AC Morgan × *Pc45* i Kasztan × *Pc45*, gdzie *Pc45* jest linią referencyjną niosącą gen *Pc45*. Potomstwo F<sub>2</sub> i linie F<sub>3</sub> obu populacji fenotypowano pod względem odporności wykorzystując w tym celu izolat CR258 (rasa NTGG) i zaobserwowano stosunek rozszczepień 3:1 odpowiadający segregacji pojedynczego genu dominującego. Markery SNP, opracowane we wcześniejszych badaniach dla

*PcKM* (Gnanesh i in. 2015), testowano na populacjach z *Pc45* i tworzone mapy sprzężeń. Dodatkowo, zidentyfikowano 17 nowych markerów SNP na podstawie danych uzyskanych metodą GBS, które zmapowano w tych dwóch populacjach, oraz kolejnych trzech populacjach segregujących pod względem *Pc45* lub *PcKM*. W efekcie geny *Pc45* i *PcKM* zmapowano w tej samej lokalizacji na grupie sprzężeń Mrg08 odpowiadającej chromosomowi 12D konsensusowej mapy genetycznej owsa (Chaffin i in. 2016). Wyniki te sugerują, że *Pc45* i *PcKM* są najprawdopodobniej tym samym genem odporności, ale nie można wykluczyć, że są to dwie postacie alleliczne tego samego genu lub dwa odrębne, lecz bardzo ściśle sprzężone geny.

Markery DNA są alternatywą dla żmudnych testów fizjologicznych żywicieli-patogen. Test fizjologiczny jest trudny, wymaga posiadania odpowiednich izolatów o określonym spektrum wirulencji, właściwego doboru izolatów do danej analizy, zapewnienia określonych warunków temperatury, wilgotności i natężenia światła w trakcie prowadzenia testu, a przede wszystkim dużego doświadczenia w interpretacji wyników. Test z wykorzystaniem markera molekularnego jest znacznie prostszy i szybszy. Problemem jest jednak opracowanie takich markerów, które byłyby użyteczne nie tylko w populacji, w oparciu o którą zostały wyprowadzone, ale również w niespokrewnionych materiałach z danym genem. Kluczowym dla tego typu analiz jest zidentyfikowanie polimorfizmów w rejonach genomu sprzężonych z obecnością danego genu odporności, a najlepiej - identyfikacja mutacji bezpośrednio w obrębie sekwencji kodującej genu uczestniczącego w reakcji odpornościowej.

Należy również pamiętać, że wprowadzanie pojedynczych genów odporności do odmian nie jest najlepszą formą ich ochrony przed patogenem, gdyż naturalnym skutkiem jest wywołanie presji selekcyjnej, prowadzącej do powstania form patogenu wirulentnych w stosunku do danego genu. Alternatywą jest tworzenie piramid genowych, czyli łączenie w jednej odmianie kilku pojedynczych genów w celu przedłużenia trwałości odporności (Tomczyńska i Śliwka 2011). Całkowite przełamanie tego typu odporności musiałoby być warunkowane szeregiem równoczesnych mutacji w genach wirulencji patogenu (Sánchez-Martin 2012). Znajomość wirulencji populacji patogenu jest pomocna w podejmowaniu decyzji dotyczących kumulowania genów w celu zmaksymalizowania ich trwałości (Nazareno in. 2018). Skutki jednoczesnego zastosowania różnych genów w roślinie mogą być fenotypowo podobne, dlatego w celu ich dokładnej identyfikacji, zamiast testów prowadzonych zestawem odpowiednio dobranych izolatów, wskazane jest użycie markerów molekularnych (Chen i in. 2006). Identyfikacja markerów molekularnych dla głównych genów odporności na rdzę koronową umożliwia bardziej efektywne wykorzystanie genów *Pc* i poprawia wydajność hodowli dzięki selekcji wspomaganą markerami. Z kolei mapowanie markerów molekularnych pozwala na znalezienie markerów silnie sprzężonych z genem, identyfikację genów kandydujących, odnajdowanie form allelicznych, potwierdzanie odrębności silnie sprzężonych genów lub genów o podobnych efektach fenotypowych.

Dla wielu genów *Pc* opracowano sprzężone z nimi markery i określono ich położenie na chromosomach, jednak w większości są to markery o charakterze dominującym, trudne do wykorzystania w selekcji wspomaganą markerami (Gnanesh i in. 2014). Najbardziej pożądane, kodominujące markery typu SNP są dostępne jedynie dla genów *Pc53* (Admassu-Yimer i in. 2018), *Pc68* (Chen i in. 2006), *Pc91* (McCartney i in. 2011) i *Pc94* (Gnanesh i in., 2014), a obecnie również dla genu *Pc45* (O.7).

## NAJWAŻNIEJSZE STWIERDZENIA I WNIOSKI Z PRAC SKŁADAJĄCYCH SIĘ NA OSIĄGNIĘCIE NAUKOWE

1. Polskie odmiany owsa, z wyjątkiem odmian Celer i Borowiak, nie posiadają efektywnych genów odporności na rdzę koronową, dlatego też wprowadzanie genów *Pc* powinno być jednym z podstawowych elementów hodowli twórczej tego gatunku w Polsce.
2. Najbardziej efektywnym od 2013 roku pozostaje gen *Pc91* – jedyny, względem którego na terenie kraju nie zidentyfikowano, jak dotąd, wirulentnych izolatów. Pozostałe geny, które od kilku lat zapewniają stosunkowo stabilną odporność to *Pc52* i *Pc71*, a także *Pc50*, *Pc51*, *Pc59*, *Pc60* i *Pc70*. Efektywne geny powinny być rozważane jako elementy piramid genowych.
3. Stała ewolucja populacji patogenu, wynikająca z rozmnażania płciowego i mutacji oraz migracji zarodników, wymusza zarówno monitorowanie wirulencji patogenu, jak również poszukiwanie nowych efektywnych źródeł odporności.
4. Monitorowanie wirulencji *P. coronata* pozwala podjąć decyzję odnośnie wykorzystywanych w hodowli odpornościowej genów *Pc*.
5. Dzikie gatunki z rodzaju *Avena* nadal pozostają bogatym rezerwuarem genów odporności na rdzę koronową.
6. Spośród tetraploidów z sekcji *Pachycarpa* najwyższym poziomem odporności charakteryzowały się genotypy należące do gatunku *A. murphyi*. Należy rozważyć wprowadzenie zidentyfikowanej w nich odporności do form uprawnych.
7. Cennym i łatwo dostępnym źródłem odporności na rdzę koronową dla owsa zwyczajnego są heksaploidy zidentyfikowane wśród tetraploidów z grupy *Pachycarpa*.
8. Pospolity chwast upraw zbożowych – owies głuchy (*A. fatua*), może być dawcą genów odporności na rdzę koronową, jednak badane formy należy traktować jak heterogenne populacje i analizować pojedyncze rośliny, by zidentyfikować formy odporne. Najwięcej takich form występowało wśród obiektów pochodzących z Kenii, Egiptu i Turcji.
9. Charakterystyka pod względem odporności na *P. coronata* kolekcji *A. sterilis* zgromadzonej w KCRZG IHAR PIB Radzików wykazała odporność materiałów pochodzących z Maroka. Zidentyfikowano dwa genotypy w pełni odporne na wszystkie zastosowane izolaty, z których PL 51855a poddano dalszej analizie i wykazano, że jego odporność warunkowana jest nowym, wysoce efektywnym, pojedynczym genem dominującym.
10. W kolekcji *A. sterilis* z KCRZG zidentyfikowano również wiele form heterogenicznych pod względem odporności na rdzę koronową. Szczególnie PL 51851, PL 51841, PL 51832, PL 51856 wykazały silną i złożoną odpowiedź częściową, która może być bardzo wartościowa i może zostać wykorzystana do rozwijania trwałej odporności u odmian.
11. W prowadzonych badaniach formy o heterogenicznych pod względem odporności fenotypach stanowiły, w zależności od badanego gatunku od 37 do 85%. Obiekty reprezentujące dzikie gatunki z rodzaju *Avena*, zgromadzone w bankach genów, należy traktować jak zróżnicowane pod względem odporności populacje. Badania odporności powinny być prowadzone na co najmniej kilku lub kilkunastu pojedynczych siewkach lub roślinach dorosłych. Taki sposób analizy pozwala na odkrycie cennych alleli, które pozostałyby niezauważone w obrębie prób zbiorczych
12. Wykorzystanie w odmianach uprawnych częściowej odporności charakterystycznej dla populacji naturalnych i tworzenie heterogenicznych populacji, mogłoby zapewnić trwałą odporność odmianom uprawnym i stać się alternatywą dla piramidyacji genów głównych.



13. Opracowano ściśle sprzężone z genem *Pc45* kodominujące markery typu SNP możliwe do wykorzystania w selekcji wspomaganą markerami.
14. Wykazano, że *Pc45* i *PcKM* są najprawdopodobniej tym samym genem odporności. Niestety nie można jednoznacznie wykluczyć, że są to dwie postacie alleliczne tego samego genu lub dwa odrębne, lecz bardzo ściśle sprzężone ze sobą geny.

## LITERATURA

- Adamczewski, K., Kierzek, R., Matysiak, K., 2013. Wild oat (*Avena fatua* L.) biotypes resistant to acetolactate synthase and acetyl-CoA carboxylase inhibitors in Poland. *Plant Soil Environ.* 59(9), 432–437.
- Admassu-Yimer, B., Gordon, T., Harrison, S., Kianian, S., Bockelman, H., Bonman, J.M., Esvelt Klos, K., 2018. New Sources of Adult Plant and Seedling Resistance to *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* Identified among *Avena sativa* Accessions From the National Small Grains Collection. *Plant Dis.* 102(11), 2180–2186.
- Aung, T., Chong, J., Leggett, M., 1996. The transfer of crown rust resistance *Pc94* from a wild diploid to cultivated hexaploid oat. W: Kema, G.H.J., Nicks, R.E., Daamen, R.A. (Red.), 9th International European and Mediterranean Cereal Rust and Powdery Mildews Conference 2-6 September 1996. Wageningen, European and Mediterranean Cereal Rust Foundation, Lunteren, Netherlands, 167–171.
- Aung, T., Zwer, P., Park, R., Davies, P., Sidhu, P., Dundas, I., 2010. Hybrids of *Avena sativa* with two diploid wild oats (CIav6956) and (CIav7233) resistant to crown rust. *Euphytica* 174(2), 189–198.
- Boczkowska, M., Nowosielski, J., Nowosielska, D., Podyma, W., 2014. Assessing genetic diversity in 23 early Polish oat cultivars based on molecular and morphological studies. *Genet. Resour. Crop Evol.* 61(5), 927–941.
- Budzyński W. 1999. Reakcja owsa na czynniki agrotechniczne – przegląd wyników badań krajowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1(18) Supl. 11-25.
- Cabral, A.L., Gnanesh, B.N., Fetch, J.M., McCartney, C., Fetch, T., Park, R.F., Menzies, J.G., McCallum, B., Nanaiah, G.K., Goyal, A., 2014. Oat fungal diseases and the application of molecular marker technology for their control. W: Goyal, A., Manoharachary, C. (Red.), *Future Challenges in Crop Protection Against Fungal Pathogens*. Springer Science+Business Media, New York, 343–358.
- Cabral, A.L., Park, R.F., 2014. Seedling resistance to *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* in *Avena strigosa*, *A. barbata* and *A. sativa*. *Euphytica* 196(3), 385–395.
- Cabral, A.L., Singh, D., Park, R.F., 2011. Identification and genetic characterisation of adult plant resistance to crown rust in diploid and tetraploid accessions of *Avena*. *Ann. Appl. Biol.* 159(2), 220–228.
- Carson, M.L., 2009. Broad-spectrum resistance to crown rust, *Puccinia coronata* f. sp. *avenae*, in accessions of the tetraploid slender oat, *Avena barbata*. *Plant Dis.* 93(3), 363–366.
- Carson, M.L., 2010. Additional sources of broad-spectrum resistance to *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* from canadian accessions of *Avena barbata*. *Plant Dis.* 94(6), 1405–1410.
- Carson, M.L., 2011. Virulence in oat crown rust (*Puccinia coronata* f. sp. *avenae*) in the United States from 2006 through 2009. *Plant Dis.* 95(12), 1528–1534.
- CDL, 2017. Cereal Disease Laboratory, St. Paul, Minnesota. <https://www.ars.usda.gov/midwest-area/stpaul/cereal-disease-lab/docs/resistance-genes/resistance-genes/>.
- Chaffin, A.S., Huang, Y., Smith, S., Bekele, W.A., Gnanesh, B.N., Foresman, B.J., Blanchard, S.G., Jeremy, J., Reid, R.W., Wight, C.P., Chao, S., Oliver, R., Kolb, F.L., McCartney, C., Mitchell, J.W., Beattie, A.D., Bjørnstad, Å., Bonman, J.M., Langdon, T., Howarth, C.J., Cory, R., Jellen, E.N., Esvelt, K., Poland, J.A., Hsieh, T., Brown, R., Jackson, E., Schlueter, J.A., Tinker, N.A., 2016. A consensus map in cultivated hexaploid oat reveals conserved grass synteny with substantial sub-genome rearrangement. *Plant Genome* 9(2), 1–35.
- Chen, X., Steed, A., Harden, C., Nicholson, P., 2006. Characterization of *Arabidopsis thaliana*-*Fusarium graminearum* interactions and identification of variation in resistance among ecotypes. *Mol. Plant Pathol.* 7(5), 391–403.
- Chong, J., Gruenke, J., Dueck, R., Mayert, W., Mitchell Fetch, J.W., McCartney, C.A., 2011. Virulence of *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* in the eastern prairie region of Canada during 2007-2009. *Can. J. Plant Pathol.* 33(1), 77–87.

- Chong, J., Gruenke, J., Dueck, R., Mayert, W., Woods, S., 2008. Virulence of oat crown rust *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* in Canada during 2002–2006. *Can. J. Plant Pathol.* 30(1), 115–123.
- Denissen C.J.M. 1993. Components of adult plant resistance to leaf rust in wheat. *Euphytica* 70, 31–140.
- Dyck, P.L., Zillinsky, F.J., 1963. Inheritance of crown rust resistance transferred from diploid to hexaploid oats. *Can. J. Genet. Cytol.* 5(4), 398–407.
- Fetch, T., McCallum, B., Menzies, J., Rashid, K., Tenuta, A., 2011. Rust diseases in Canada. *Ps&C* 4, 86–96.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) Statistics division,. URL <http://faostat3.fao.org>.
- Frey L., Rutkowski L. 2002. Wykaz gatunków (suplement 3). L. Frey (red). Polska Księga Traw, Instytut Botaniki im. W. Szafera, PAN, Kraków, 87-95.
- Gnanesh, B. N., McCartney C. A., Eckstein P. E., Mitchell Fetch J., Menzies J. G., Beattie A.D. 2015 Genetic analysis and molecular mapping of a seedling crown rust resistance gene in oat. *Theor. Appl. Genet.* 128: 247–258.
- Gnanesh, B.N., Mitchell Fetch, J.W., Menzies, J.G., Beattie, A.D., Eckstein, P.E., McCartney, C.A., 2013. Chromosome location and allele-specific PCR markers for marker-assisted selection of the oat crown rust resistance gene *Pc9I*. *Mol. Breed.* 32(3), 679–686.
- Gnanesh, B.N., Mitchell Fetch, J.M., Zegeye, T., McCartney, C.A., Fetch, T., 2014. Oat. W: Pratap, A., Kumar, J. (Red.), *Alien Gene Transfer in Crop Plants*. Springer, New York, Heidelberg, London, 51–73.
- Górny, A.G., 2004. Zarys genetyki owsa (rodzaj *Avena* L.). W: Górny, A.G. (Red.), *Zarys genetyki zbóż*. IGR PAN, Poznań, 311–422.
- Gregová E., Hermuth J., Kraic J., Dotlail L. 1999. Protein heterogeneity in European wheat landraces and obsolete cultivars. *Gen. Res. Crop Evol.* 46(5) 521-528.
- Holm, L.G., Plucknett, D.L., Pancho, J. V., Herberger, J.P., 1991. The world's worst weeds. Distribution and biology. The University Press of Hawaii, Honolulu.
- Hsam, S.L.K., Peters, N., Paderina, E. V, Felsenstein, F., Oppitz, K., Zeller, F.J., 1997. Genetic studies of powdery mildew resistance in common oat (*Avena sativa* L.) I. Cultivars and breeding lines grown in Western Europe and North America. *Euphytica* 96, 421–427.
- Jellen, E., Leggett, J.M., 2006. Cytogenetic Manipulation in Oat Improvement. W: Singh, R.J., Jauhar, P.P. (Red.), *Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement, Genetic Resources Chromosome Engineering & Crop Improvement*. CRC Press, Boca Raton, 199–231.
- Jiráková, H., Hanzalová, A., 2008. Crown rust pathotypes determined on oats in the Czech Republic from 2004 to 2006 and reaction to oat cultivars. *Czech J. Genet. Plant Breed* 2, 60–65.
- Kawka, A., Achremowicz, B., 2014. Owies - roślina XXI wieku. Wykorzystanie żywieniowe i przemysłowe. *Nauk. Przyr. Technol.* 8(3), 1–12.
- Kowalczyk Cz., Ratajczak P. 1995. Produkcja owsa w Polsce i na świecie. „Owies - chemia i technologia” red. H. Gąsiorowski, PWRiL, Poznań.
- Ladizinsky, G., 1998. A new species of *Avena* from Sicily, possibly the tetraploid progenitor of hexaploid oats. *Genet. Resour. Crop Evol.* 45(3), 263–269.
- Leggett J.M. 1996. Using and conserving *Avena* genetic resources. W: Proceedings of the V<sup>th</sup> international oat conference and VII<sup>th</sup> international barley genetic symposium. Scoles G.J., Rosznagel B.G. (red.). University of Saskatchewan. Saskatoon, 128–132.
- Loskutov, I.G., Rines, H.W., 2011. *Avena*. W: Kole, C. (Red.), *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 109–183.
- Martinelli J.A., Federizzi L.C., Bennedetti A.C. 1994. Yield reductions of oat grains due leaf rust severity. *Summa Phytopathol.* 20, 116–118.
- Mazaraki M., 1991. Odporność różnych genotypów owsa na powszechnie występujące rasy rdzy koronowej w Polsce. *Hod. Rośl. Aklim. Nasien.* 35(5/6), 3–26.
- Mazaraki M. 1999. Przegląd chorób owsa. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1(18) Supl. 181-185.
- Mazaraki M. 1983. Rdza koronowa - jeden z ważniejszych patogenów owsa. *Biul. Inst. Hod. i Aklim. Roślin*, 150, 27-32.
- McCartney, C.A., Stonehouse, R., Rosznagel, B., Eckstein, P.E., Scoles, G., Zatorski, T., Beattie, A.D., Chong, J. 2011. Mapping of the oat crown rust resistance gene *Pc9I*. *Theor. Appl. Genet.* 122(2), 317–325.
- McMullen, M.S., Doehlert, D.C., Miller, J.D., 2005. Registration of ‘HiFi’ Oat. *Crop Sci.* 45, 1664–1664.
- McNeal, F.M., Konzak, C.F., Smith, E.P., Tate, W.S., Russell, T.S., 1971. A uniform system for recording and

- processing cereal research data. USDA-ARS Bull. 34, 121.
- Menzies, J.G., Xue, A., Dueck, R., Greunke, J., 2015. Virulence of *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* in Canada; 2010 to 2014. W: 14th International Cereal Rust and Powdery Mildew Conference 5-8 July 2015. Denmark, Copenhagen, 95.
- Möller, M., Stukenbrock, E.H., 2017. Evolution and genome architecture in fungal plant pathogens. Nat. Rev. Microbiol. 15(12), 756–771.
- Mundt, C.C., Browning, J.A., 1985. Genetic diversity and cereal rust management. W: Bushnell, W.R., Roelfs, A.P. (Red.), The Cereal Rusts. Vol. 2. Academic Press, Orlando, Florida, 527–560.
- Murphy, H.C., 1935. Physiologic specialisation in *Puccinia coronata* f. sp. *avenae*. Bull. U.S. Dep. Agric. 433, 1–48.
- Nazareno, E.S., Li, F., Smith, M., Park, R.F., Kianian, S.F., Figueroa, M., 2018. *Puccinia coronata* f. sp. *avenae*: a threat to global oat production. Mol. Plant Pathol. 19(5), 1047–1060.
- Owen, M.J., Powles, S.B., 2009. Distribution and frequency of herbicide-resistant wild oat (*Avena* spp.) across the Western Australian grain belt. Crop Pasture Sci. 60, 25–31.
- Park, R., 2013. New oat crown rust pathotype with virulence for Pc91, Cereal Rust Report. Cobbitty.
- Park, R.F., 2008. Breeding cereals for rust resistance in Australia. Plant Pathol. 57(4), 591–602.
- Park, R.F., Wellings, C.R., 2012. Somatic hybridization in the uredinales. Annu. Rev. Phytopathol. 50(1), 219–239.
- Rajhathy, T., Thomas, H., 1974. Cytogenetics of Oats. Misc. Publ. Genet. Soc. Canada 2, 1–90.
- Rines, H.W., Miller, M.E., Carson, M., Chao, S., Tiede, T., Wiersma, J., Kianian, S.F., 2018. Identification, introgression, and molecular marker genetic analysis and selection of a highly effective novel oat crown rust resistance from diploid oat, *Avena strigosa*. Theor. Appl. Genet. 131(0123456789), 721–733.
- Rooney, W.L., Rines, H.W., Phillips, R.L., 1994. Identification of RFLP markers linked to crown rust resistance genes *Pc91* and *Pc92* in oat. Crop Sci. 34(4), 940–944.
- Sánchez-Martín, J., Rubiales, D., Sillero, J.C., Prats, E., 2012. Identification and characterization of sources of resistance in *Avena sativa*, *A. byzantina* and *A. strigosa* germplasm against a pathotype of *Puccinia coronata* f.sp. *avenae* with virulence against the *Pc94* resistance g. Plant Pathol. 61(2), 315–322.
- Šebesta, J., Zwatz, B., Roderick, H., Corazza, L., Manisterski, J., Stojanovic, S., 2003. Incidence of crown rust and virulence of *Puccinia coronata* cda. f.sp. *avenae* eriks. and the effectiveness of *Pc* genes for resistance in Europe, Middle East and North Africa. Arch. Phytopathol. Plant Prot. 36(3–4), 179–194.
- Simons, M.D., 1985. Crown rust. W: Roelfs, A.P., Bushnel, W.R. (Red.), The cereal rust Vol. 2 Diseases, Distribution, Epidemiology, and Control. Academic Press, Orlando, 131–172.
- Simons, M.D., Martens, J.W., McKenzie, R.I.H., Nishiyama, I., Sadanaga, K., Šebesta, J., Thomas, H., 1978. Oats: a standardized system of nomenclature for genes and chromosomes and catalog of genes governing characters. Science and Education Administration, and Iowa Agricultural and Home Economics Experiment Station., Washington, D.C.
- Tan, M.Y.A., Carson, M.L., 2013. Screening wild oat accessions from Morocco for resistance to *Puccinia coronata*. Plant Dis. 97(12), 1544–1548.
- Thill, D.C., O'Donovan, J.T., Mallory-Smith, C.A., 1994. Integrated weed management strategies for delaying herbicide resistance in wild oats. Phytoprotection 75(4), 61.
- Tomczyńska, I., Śliwka, J., 2011. Piramidyżacja genów odporności w roślinach uprawnych. Biul. Inst. Hod. i Aklim. Roślin (262), 77–88.
- Zarzecka, K., Gugała, M., Mystkowska, I., Baranowska, A., Zarzecka, M., Falkowska, K., 2015. Oat seed – nutritional value and pro-healthy and industrial use. Med. Rodz. (4), 182–185.
- Zadoks, J.C. 1961. Yellow rust on wheat studies in epidemiology and physiologic specialization, T. Pl. Ziekten 67, 69–256.
- Zeller F.J. 1998. Nutzung des genetischen Potentials der Avena-Wildarten zur Verbesserung des Saathafers (*Avena sativa* L.). J. Appl. Bot. 72: 180-185.

## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Działalność naukową rozpoczęłam w 1998 roku wraz z podjęciem studiów doktoranckich na Wydziale Rolniczym, Akademii Rolniczej w Lublinie, w Instytucie Genetyki i Hodowli Roślin, pod kierunkiem prof. dr hab. Danuty Miazgi. Problem badawczy, którego realizacji podjęłam się w trakcie studiów, dotyczył szeroko pojętych analiz genetycznych mieszańców międzygatunkowych owsa. Przedmiotem badań były mieszańce owsa zwyczajnego *Avena sativa* L. z heksaploidalnymi gatunkami: *A. sterilis* L., *A. byzantina* Koch. i *A. fatua* L. W pracy doktorskiej przedstawiłam badania cytologiczne, hodowlane i molekularne mieszańców *A. sativa* × *A. sterilis* pokolenia F<sub>2</sub> oraz ich form rodzicielskich. W trakcie analiz cytologicznych oceniałam stabilność cytogenetyczną mieszańców uwzględniając konfigurację chromosomów w metafazie I, częstotliwość chromosomów opóźnionych i mostów chromatydowych w anafazie I, frekwencję mikrojąder w tetradach oraz żywotność i wymiary ziaren pyłku (**D.3**). W trakcie wegetacji przeprowadziłam ocenę wczesności i wysokości roślin, a po zbiorze oceniłam cechy plonotwórcze badanych materiałów. Określiłam liczbę pędów produkcyjnych i niedogonów, liczbę kłosek w wieszce, liczbę i masę ziarniaków z wiechy, zaś na ich podstawie obliczyłam MTZ i płodność kłosa (**D.4**). Stosując metody molekularnej analizy DNA zidentyfikowałam markery RAPD i AFLP potwierdzające mieszańcowy charakter badanych obiektów. Badania molekularne poszerzyłam o ocenę polimorfizmu międzyodmianowego w oparciu o markery RAPD, na podstawie którego ustaliłam podobieństwo genetyczne polskich odmian *A. sativa* (**D.35**). Obrona pracy doktorskiej odbyła się w czerwcu 2002 r. Praca została wyróżniona.

Poza realizacją zadań związanych z przyszłą pracą doktorską zostałam włączona do zespołu badawczego kierowanego przez prof. dr hab. Danutę Miazgę, zajmującego się m.in. oceną plejotropowych efektów genów *Ppd1* związanych z niewrażliwością na fotoperiod w pszenicy zwyczajnej (**D.1**, **D.8**). Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że geny *Ppd1* istotnie wpływały na przyspieszenie terminu kłoszenia roślin. Nie wykazano istotnych efektów plejotropowych genów *Ppd1* zarówno na wartości analizowanych cech ilościowych, jak i na porażenie roślin przez rdzę brunatną oraz septoriozę liści i plew.

Po uzyskaniu stopnia doktora, we wrześniu 2002 r., zostałam zatrudniona na stanowisku starszego technika w Instytucie Genetyki i Hodowli Roślin Akademii Rolniczej w Lublinie (obecnie Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie), następnie od 2004 r. pracowałam w Instytucie na stanowisku asystenta, a od 2005 r. adiunkta.

W początkowym okresie działalności naukowej uczestniczyłam głównie w badaniach statutowych Instytutu. Opublikowałam wówczas wyniki, które uzyskałam jeszcze w trakcie studiów doktoranckich, a które opracowałam lub poszerzyłam już po uzyskaniu stopnia doktora. Tematykę badań pojętą w trakcie doktoratu kontynuuję do dziś wykorzystując coraz bardziej zaawansowane metody analiz molekularnych, a moje zainteresowania naukowe koncentrują się na następujących zagadnieniach:

- Poszerzanie zmienności genetycznej owsa
- Ocena zróżnicowania genetycznego gatunków z rodzaju *Avena*
- Odporność owsa na mączniaka prawdziwego
- Wykorzystanie analiz molekularnych do oceny zróżnicowania innych gatunków roślin

Powyższe tematy badawcze były realizowane w ramach działalności statutowej Instytutu, projektów badawczych, współpracy z jednostkami Uczelni oraz innymi jednostkami naukowymi w kraju i na świecie.

## POSZERZANIE ZMIENNOŚCI GENETYCZNEJ OWSA

Poszerzanie zmienności poprzez krzyżowania międzygatunkowe z formami dzikimi jest jednym z najprostszych sposobów zwiększania potencjału genetycznego form uprawnych. Dzikie formy owsa stanowią niezastąpiony rezerwar zmienności genetycznej. Wśród genotypów owsa zgromadzonych w światowych kolekcjach zidentyfikowano geny: odporności na choroby, tolerancji na suszę, karłowatości, niewrażliwości na długość dnia, warunkujące wysoką zawartość białka, tłuszczu i  $\beta$ -glukanów w ziarnie czy wysoki potencjał plonowania. Wykorzystanie gatunków nieuprawnych jako źródeł zróżnicowania genetycznego nastręcza w niektórych przypadkach znacznych trudności, dlatego preferowanym przez hodowców materiałem wyjściowym są już istniejące odmiany, zaawansowane linie hodowlane i odmiany miejscowe. Bariery krzyżowalności pomiędzy gatunkami wynikają z różnego poziomu ploidalności lub braku homologii genomów. Powodują one całkowitą lub częściową sterylność uzyskiwanych mieszańców i stanowią istotne ograniczenie w bezpośrednim wykorzystaniu genów warunkujących korzystne cechy. Analizy cytologiczne są więc niezbędne w celu selekcji korzystnych, stabilnych cytogenetycznie genotypów z populacji mieszańców. W pracach **D.2**, **D.5**, **D.6** określano stabilność cytogenetyczną oraz przeprowadzano ocenę cech plonotwórczych mieszańców międzygatunkowych  $F_2$  *Avena sativa* L.  $\times$  *Avena fatua*, *A. sativa*  $\times$  *A. sterilis* oraz *A. sativa*  $\times$  *A. byzantina* L., a wykorzystując metody molekularnej analizy DNA potwierdzano mieszańcowy charakter roślin  $F_1$ . W potomstwie mieszańców  $F_2$  obserwowano rośliny o istotnie wyższej w porównaniu z *A. sativa* liczbie i masie ziarniaków z wiechy, wyższym MTZ czy zwiększonej zawartości białka, co wskazywało na możliwość selekcji form o korzystnych cechach plonotwórczych. Na podstawie przeprowadzonych analiz cytologicznych stwierdzono regularną mejozę oraz wysoką żywotność pyłku świadczące o dobrej stabilności cytogenetycznej mieszańców *A. sativa*  $\times$  *A. byzantina* oraz *A. sativa*  $\times$  *A. fatua*. Mieszańce o najbardziej korzystnych parametrach plonotwórczych przekazano spółkom hodowlanym, gdzie zostały wykorzystane do wyprowadzania linii hodowlanych i przyczyniły się do poszerzenia puli genowej owsa.

W krzyżowaniach międzygatunkowych mających na celu wzbogacenie puli genowej owsa najczęściej wykorzystuje się wspomniane wyżej gatunki heksaploidalne (*A. sterilis*, *A. fatua* czy *A. byzantina*) należące do łatwo dostępnej dla hodowli pierwszorzędowej puli genowej (**D.32**, **D.52**). W pracach **D.9**, **D.15** i **D.31** przedstawiono wyniki eksperymentów mających na celu poszerzenie puli genowej *A. sativa* o allele tetraploidalnych gatunków *A. magna* i *A. murphyi*. Reprezentują one drugorzędową pulę genową dla owsa zwyczajnego, a oddzielające je bariery krzyżowalności, wynikające z różnic w poziomie ploidalności, prowadzą do uzyskania częściowo sterylnych pentaploidalnych mieszańców, którym poprzez krzyżowania wsteczne z *A. sativa* przywraca się płodność oraz heksaploidalną liczbę chromosomów otrzymując euploidalne rekombinanty (**D.9**, **D.46**). Krzyżowania z tetraploidami prowadzono głównie w celu zwiększenia rozmiarów ziarniaków, podwyższenia zawartości białka w ziarnie, zwiększenia odporności na choroby m.in. rdzę koronową, tolerancji na nicienie i BYDV. Ze względu na obecność wielu prymitywnych cech u mieszańców wczesnych pokoleń, konieczne jest wykonywanie krzyżowań wypierających (**D.15**). Regularna mejoza i wysoka żywotność pyłku oraz zróżnicowanie w obrębie uzyskanych kombinacji mieszańcowych pod względem wartości analizowanych cech plonotwórczych stworzyła możliwość selekcji interesujących materiałów wyjściowych dla hodowli owsa, które zostały przekazane spółkom hodowlanym (**D.15**, **D.31**). Wyniki prowadzonych prac dotyczące analiz molekularnych i cytogenetycznych (**D.36**, **D.41**) oraz oceny cech ilościowych (**D.48**) mieszańców *A. sativa* z formami tetraploidalnymi, a także efektywności krzyżowań wstecznych (**D.46**) tych mieszańców prezentowane były również na konferencjach w postaci posterów i wystąpień.

OCENA ZRÓŻNICOWANIA GENETYCZNEGO GATUNKÓW Z RODZAJU *AVENA*

Poznanie genetycznego pokrewieństwa pomiędzy poszczególnymi gatunkami na różnych poziomach ploidalności jest podstawowym warunkiem efektywnego dobierania komponentów rodzicielskich do krzyżowań w celu uzyskania mieszańców międzygatunkowych, które charakteryzowałyby się pożądanymi cechami i mogłyby posłużyć do uzyskania nowych odmian. Dynamiczny rozwój biologii molekularnej doprowadził do opracowania nowych technik analizy polimorfizmu DNA pozwalających na charakteryzowanie zmienności genetycznej materiałów hodowlanych z pominięciem złożonych zależności pomiędzy genotypem, fenotypem a środowiskiem. Współczesna hodowla coraz częściej wspomagana jest informacjami uzyskiwanymi w oparciu o analizy molekularne. Zastosowanie markerów DNA umożliwia ocenę zróżnicowania materiałów hodowlanych, dobór właściwych komponentów do krzyżowań, potwierdzanie mieszańcowego pochodzenia uzyskanego potomstwa oraz identyfikację i selekcję pożądaných form stanowiących źródło unikatowych alleli oraz genotypów o bardzo dużym podobieństwie. Badania te mogą w znacznym stopniu ułatwić i przyspieszyć otrzymywanie nowych, doskonalszych odmian.

Polskie odmiany *Avena sativa* L. były kilkakrotnie przedmiotem prowadzonych przez mnie badań zróżnicowania genetycznego, w których wykorzystywałam różne systemy markerów DNA, takie jak: RAPD (**A.1**, **D.13**, **D.35**), AFLP (**A.1**, **D.7**, **D.37**), ISSR (**A.7**, **D.13**, **D.42**) oraz silicoDArT (**D.26**). Podobieństwo genetyczne analizowanych odmian było zbliżone i wynosiło: 0,650 (ISSR) (**A.7**), 0,690 (AFLP<sup>PstI</sup>) (**A.1**), 692 (AFLP<sup>PstI</sup>) (**D.7**), 0,720 RAPD (**A.1**), 0,743 (silicoDArT) (**D.26**) w zależności od badanych materiałów i zastosowanej metody. Uzyskane wyniki wykazały, że polskie odmiany stanowią stosunkowo bogatą pulę genetyczną, a największe zróżnicowanie występuje pomiędzy materiałami pochodzącymi z różnych programów hodowlanych, w związku z tym krzyżowania pomiędzy nimi powinny umożliwić uzyskanie nowych, doskonalszych odmian. Technika polecaną do dalszych analiz molekularnych, z uwagi na wysoki udział polimorficznych markerów, byłaby DArTseq – metoda bazująca na sekwencjonowaniu zredukowanej reprezentacji genomu, wzbogaconej o sekwencje kodujące, dostarczająca wielu dominujących (silicoDArT) i kodominujących (DArTseq) markerów o wysokiej wiarygodności.

Ocenie zróżnicowania genetycznego z wykorzystaniem metod molekularnej analizy DNA poddano również inne heksaploidalne gatunki z rodzaju *Avena*: *A. fatua* i *A. sterilis*. Z uwagi na duże podobieństwo genetyczne do *A. sativa*, gatunek *A. sterilis* uważany jest za jedno z najłatwiej dostępnych źródeł zmienności genetycznej dla owsa zwyczajnego. W celu określenia poziomu zróżnicowania genetycznego form *A. sterilis*, wykorzystywanych do krzyżowań poszerzających zmienność uprawnych form owsa prowadzonych w ramach projektów **I.5** i **I.8**, dokonano analizy polimorfizmu DNA wykorzystując metody RAPD (**D.10**, **D.45**, **D.47**) oraz ISSR (**D.18**, **D.44**, **D.47**). Współczynnik podobieństwa genetycznego Dice'a obliczony na podstawie uzyskanych wyników wyniósł 0,614 w przypadku zastosowania metody RAPD (**D.10**) oraz 0,715 – ISSR (**D.18**). Wartości indeksów zawierające się w tym przedziale świadczą o dużym zróżnicowaniu badanych genotypów *A. sterilis* i ich potencjale w poszerzaniu zmienności owsa zwyczajnego. Innym, wykorzystywanym do krzyżowań, gatunkiem jest *A. fatua*. Zróżnicowanie morfologiczne, bogactwo wartościowych genów i niespotykana zdolność adaptacyjna tego gatunku pozwalały przypuszczać, że jego pula genetyczna jest bogata i heterogeniczna. Analizy polimorfizmu DNA przeprowadzone przez innych autorów dla form amerykańskich, chińskich i pakistańskich nie potwierdziły jednak tej hipotezy. Analizując zróżnicowanie *A. fatua* za pomocą metod ISSR i REMAP wykazano, wysokie wewnątrzgatunkowe podobieństwo *A. fatua* (**D.16**, **D.50**). Formy skolekcjonowane w Polsce charakteryzowały się większym podobieństwem genetycznym, aniżeli pochodzące z pozostałych krajów Europy i Azji. Można więc stwierdzić, że lepszym źródłem do poszerzania zmienności

*A. sativa* są genotypy *A. sterilis*, z kolei w krzyżowaniach z *A. fatua* należy wykorzystywać formy o korzystnych fenotypach w celu wprowadzania konkretnych alleli genów.

Celem prowadzonych badań było również określenie relacji filogenetycznych pomiędzy heksaploidalnymi gatunkami owsa. Relacje te w rodzaju *Avena* nie są oczywiste. Owies zwyczajny mógł wyewoluować z *A. sterilis* L. lub z *A. fatua* L., ewentualnie powstać w sposób niezależny. Na podstawie analiz przeprowadzonych metodą SSR z wykorzystaniem starterów mikrosatelitarnych opracowanych dla pszenicy (**D.12**) stwierdzono większe podobieństwo *A. fatua*, aniżeli *A. sterilis*, do *A. sativa*. Biorąc pod uwagę niewielkie wewnątrzgatunkowe zróżnicowanie genetyczne *A. fatua* (**D.16**), mniejsze zróżnicowanie *A. fatua* aniżeli *A. sativa* (**A.1**, **D.7**, **D.13**, **D.26**) i jego podobieństwo do *A. sativa* (**D.12**) można przypuszczać, że przodkiem *A. fatua* jest *A. sativa*, a nie odwrotnie.

W badaniach dotyczących powiązań filogenetycznych, prowadzonych przez inne zespoły badawcze, stwierdzono również, że dawcą genomu A dla *A. fatua* może być inny diploidalny gatunek aniżeli u pozostałych heksaploidów, co wskazywałoby na niezależną od pozostałych heksaploidów drogę ewolucji. Teoria ta powstała w oparciu o obserwacje rozmieszczenia retrotranspozonów Ty1-*copia* występujących w dużych ilościach na chromosomach genomu A i w niewielkiej liczbie kopii na chromosomach genomu C. W celu weryfikacji tej teorii do analiz (**A.6**) wybrano najbardziej zróżnicowane spośród badanych wcześniej genotypów *A. sterilis* (**D.18**) oraz *A. fatua* (**D.16**), czyli formy skrajne, o najwyższym i najniższym podobieństwie do owsa uprawnego. Wykorzystano dwa systemy markerowe REMAP i ISSR. Zastosowanie pierwszego, identyfikującego polimorfizm rozmieszczenia sekwencji retrotranspozonu BARE-1, miało dostarczyć odpowiedzi na pytanie, czy genom A u gatunku *A. fatua* ma inne pochodzenie niż u pozostałych heksaploidów, zaś metoda ISSR identyfikująca polimorfizm związany z rozmieszczeniem mikrosatelit posłużyła do badania zróżnicowania w obrębie całego genomu. Uzyskane wyniki wykluczyły odmienne od pozostałych heksaploidów pochodzenie genomu A u *A. fatua* (**A.6**).

Kolejnym rozpatrywanym problemem badawczym były relacje podobieństwa genetycznego gatunków heksaploidalnych *A. sativa* i *A. sterilis* do tetraploidów: *A. maroccana* (obecnie *A. magna*), *A. murphyi* i *A. macrostachya*. Analizy prowadzono wykorzystując metody RAPD oraz SSR (**D.20**, **D.49**). Tetraploidy *A. maroccana* i *A. murphyi* utworzyły oddzielne subklastry, a jednocześnie uległy wspólnemu grupowaniu z heksaploidami. Analizowane genotypy *A. macrostachya*, jedynego obcopolnego i wieloletniego gatunku w rodzaju *Avena*, uformowały najbardziej odseparowaną grupę skupień, co wskazuje na ich największą odmienność genetyczną. Uzyskane wyniki potwierdziły duże podobieństwo genetyczne heksaploidów do tetraploidów *A. magna* i *A. murphyi*. Zróżnicowane wartości indeksów podobieństwa genetycznego oszacowane na podstawie polimorfizmu identyfikowanego metodami RAPD i SSR nie pozwoliły jednakże na jednoznaczne stwierdzenie, który z tych tetraploidalnych gatunków jest bliższy heksaploidom. Niezależnie od zastosowanej metody oceny polimorfizmu DNA, najmniejsze podobieństwo do wszystkich pozostałych form wykazały genotypy *A. macrostachya*.

Dzikię, heksa- i tetraploidane gatunki z rodzaju *Avena* oceniano również pod względem innych cech, m.in. wrażliwości na egzogenny kwas giberelinowy (**D.11**, **D.43**), zawartości wybranych makro- i mikroskładników w ziarnie (**D.54**) czy właściwości przeciwutleniających hydrolizatów białek uzyskanych z ziarna (**A.3**, **D.53**). Na podstawie przeprowadzonych badań (**A.3**) stwierdzono, że gatunkami, których hydrolizaty białek mają największy potencjał przeciwutleniający są *A. sterilis* i *A. maroccana*. Właściwości przeciwutleniające były zróżnicowane również pomiędzy genotypami danego gatunku. Hydrolizaty białkowe uzyskane z ziarniaków dzikich genotypów owsa, należących do gatunków *A. sterilis* i *A. fatua*, charakteryzowały się z kolei wyższą zdolnością do chelatowania jonów Fe(II), niż odmiany *A. sativa*. Krzyżowania międzygatunkowe powinny wpływać korzystnie na

właściwości przeciwutleniające hydrolizatów białek owsa, a w konsekwencji na właściwości prozdrowotne ziarna. Krzyżowania międzygatunkowe należy jednak poprzedzać selekcją najlepszych genotypów w obrębie poszczególnych gatunków.

## ODPORNOŚĆ OWSA NA MĄCZNIAKA PRAWDZIWEGO

Podobnie jak rdza koronowa, mączniak prawdziwy jest chorobą często występującą w owsie, która, w zależności od nasilenia, może wywoływać straty plonu sięgające nawet 40%. Odporność polskich odmian na *Blumeria graminis* f.sp. *avenae* oraz identyfikacja nowych źródeł odporności były przedmiotem badań prowadzonych we współpracy z innymi pracownikami Instytutu. Poziom odporności na mączniaka prawdziwego oceniano w 51 polskich odmianach owsa zwyczajnego wpisanych do Krajowego Rejestru w latach 1991-2016 (**D.27, D.77**). W analizach wykorzystano testy żywiciel-patogen i wybrano izolaty mączniaka prawdziwego zebrane na terenie Polski charakteryzujące się zróżnicowaną wirulencją. Dobór izolatów umożliwił postulowanie w badanych odmianach znanych genów odporności *Pm*. Odmiany Skrzat i Gniady posiadały wzór porażenia wskazujący na obecność genu *Pm1*. Gen *Pm6* zidentyfikowano w odmianach Dragon i Rajtar, zaś *Pm3* w odmianach Deresz i Grajcar. W odmianach Celer, Kasztan, Maczo i Nawigator zidentyfikowano specyficzne profile porażenia, które mogą wskazywać, że odmiany te posiadają nowe geny lub kombinacje różnych genów odporności na mączniaka prawdziwego. Przeprowadzone badania potwierdziły, że w polskiej hodowli odpornościowej owsa, podobnie jak w hodowli europejskiej, wykorzystywane były geny odporności: *Pm1*, *Pm3* i *Pm6*. Uzyskane wyniki wskazują na potrzebę wprowadzania do programów hodowlanych pozostałych genów odporności oraz kumulowania genów w nowych odmianach w celu uzyskania trwałej odporności na wiele ras patogenu. Łączenie różnych genów *Pm* poprzez krzyżowanie odpornych genotypów wymaga monitorowania przepływu tych genów w mieszańcach. W tym celu najlepiej zastosować selekcję wspomaganą markerami. Dlatego też przeprowadzono wstępną selekcję starterów RAPD inicjujących amplifikację polimorficznych produktów specyficznych dla odmian owsa zwyczajnego zawierających różne geny *Pm*. Nie stwierdzono amplifikacji fragmentów, które można było rozpatrywać jako potencjalne markery dla tych genów (**D.17**).

Niski poziom odporności polskich odmian owsa zwyczajnego na mączniaka prawdziwego oraz niewielka liczba zidentyfikowanych genów odporności *Pm* skłaniają do poszukiwania nowych źródeł odporności. Analiza odporności 350 genotypów *A. sterilis* pochodzących z 31 krajów świata na porażenie *B. graminis* f.sp. *avenae* wykazała całkowitą lub częściową odporność na porażenie 147 z nich (**A.8, D.62, D.69, D.80**). Kolejny etap selekcji przeprowadzony z większą liczbą izolatów grzyba wyłonił 4 w pełni odporne genotypy pochodzące z rejonów Morza Śródziemnego (**A.8**). Spośród 62 testowanych obiektów *A. magna* i 17 *A. murphyi* żaden nie został porażony przez wszystkie wykorzystane w testach żywiciel-patogen izolaty mączniaka, przy czym 13 genotypów *A. magna* i 5 *A. murphyi* było całkowicie odpornych (**A.10, D.84**). Z uwagi na łatwiejszy transfer genów z gatunków heksaploidalnych do uprawnego owsa, do dalszych analiz przeznaczono odporne formy *A. sterilis*. Po weryfikacji genetycznego podłoża odporności tych genotypów mogą być one rozpatrywane jako potencjalne źródło korzystnych alleli w hodowli owsa w celu zwiększenia poziomu odporności na mączniaka prawdziwego.



## WYKORZYSTANIE ANALIZ MOLEKULARNYCH DO OCENY PODOBIENSTWA GENETYCZNEGO INNYCH GATUNKÓW ROŚLIN

Zastosowanie markerów molekularnych umożliwia ocenę podobieństwa genetycznego badanych obiektów niezależnie od modyfikującego wpływu środowiska. Badania takie pozwalają na identyfikację osobników będących źródłem alleli rzadkich, form będących duplikatami, genotypów o wysokim lub niskim wzajemnym podobieństwie genetycznym. Dane te mogą być wykorzystane w różny sposób, m.in. w selekcji właściwych form do krzyżowań w procesie hodowlanym lub charakterystyki puli genetycznej naturalnych lub hodowlanych populacji.

W ramach współpracy z Katedrą Herbologii i Technik Uprawy Roślin UP w Lublinie przeprowadziłam ocenę zróżnicowania genetycznego odmian orkisz (D.14). Przeprowadzone badania polimorfizmu markerów RAPD pozwoliły na określenie podobieństwa genetycznego badanych obiektów, które wyniosło średnio 0,868, a wahało się od 0,851 do 0,913. Uzyskane dane uzupełniły charakterystykę odmian orkisz i określiły relacje podobieństwa pomiędzy nimi. Informacje te można wykorzystać planując krzyżowania mające na celu uzyskanie nowych odmian. Współpraca podjęta z Katedrą Herbologii i Technik Uprawy Roślin dotyczyła także analizy zróżnicowania genetycznego chwastów m.in. przytulii czepnej występującej na dwóch różnych siedliskach gruntów odłogowanych (D.28) oraz gatunków z rodzaju *Anagallis* L. w zbiorowiskach segetalnych na Lubelszczyźnie (D.67). Na podstawie wyników badań polimorfizmu markerów ISSR stwierdzono niewielką zmienność genetyczną analizowanych genotypów przytulii czepnej. Przeprowadzona analiza hierarchiczna wykazała wspólną klasteryzację genotypów z poszczególnych siedlisk naturalnych, co może świadczyć o tym, że typ siedliska, gleba oraz długotrwałe odłogowanie wpływają na różnicowanie przytulii czepnej (D.28). Przeprowadzone analizy molekularne gatunków z rodzaju *Anagallis* wykazały możliwość określenia na podstawie markerów ISSR przynależności gatunkowej bardzo trudnych do rozróżnienia na podstawie cech morfologicznych *Anagallis arvensis* L. oraz *A. foemina* Mill., z których pierwszy jest pospolitym chwastem upraw polowych, drugi zaś gatunkiem zagrożonym wyginięciem.

Współpracę nawiązałam również z Katedrą Roślin Przemysłowych i Leczniczych. Dotyczyła ona analizy molekularnej genotypów należących do zagrożonego wyginięciem gatunku *Arnica montana* (A.5, D.59). W efekcie przeprowadzonych badań stwierdzono niewielkie zróżnicowanie genetyczne analizowanych form, które może być przyczyną sukcesywnego zmniejszania się populacji arniki górskiej. Wskazana jest w związku z tym ocena naturalnych populacji arniki pod względem zróżnicowania genetycznego w celu stworzenia rdzennej kolekcji niezbędnej do zachowania reprezentacji gatunku. Kolejnym gatunkiem badanym we współpracy z Pracownią Towaroznawstwa Produktów Roślinnych był rumianek pospolity (A.4). Analizy zróżnicowania genetycznego odmian i dzikich form *Chamomilla recutita* (L.) Rausch. przeprowadzono metodą ISSR wykazując niewielkie zróżnicowanie badanych genotypów i konieczność poszerzenia puli genetycznej tego gatunku.

Współpracę w zakresie analiz molekularnych mieszańców międzygatunkowych pszenicy zwyczajnej z *Aegilops kotschy* Boiss. nawiązałam z Katedrą Biologii Roślin, Wydziału Nauk Rolniczych w Zamościu (D.22, D.25, A.9, D.55). Gatunki z rodzaju *Aegilops* mogą być dawcą genów oporności na patogeny grzybowe, a także stresi abiotyczne, takie jak susza, niskie temperatury, zasolenie czy niskie pH gleby wykorzystywanych do poszerzenia zmienności pszenicy i pszenżyta. Przedmiotem prowadzonych badań (D.22) były rody mieszańcowe pokoleń F<sub>4</sub>-F<sub>5</sub> *Ae. kotschy* × *T. aestivum* L. oraz BC<sub>1</sub>F<sub>2</sub>. Obecność produktów RAPD oraz frakcji glutenin HMW specyficznych dla *Ae. kotschy* Boiss. potwierdziły mieszańcowy charakter badanych obiektów. W badaniach mieszańców uwzględniano cechy plonotwórcze oraz zawartość białka i składników mineralnych w tym żelaza i cynku (D.25). Celem badań była również identyfikacja sekwencji DNA specyficznych

dla *Ae. kotschyi* w genomie mieszańców przy wykorzystaniu techniki ISSR. Przeprowadzono ocenę podobieństwa genetycznego mieszańców  $F_4-F_5$  *Ae. kotschyi*  $\times$  *T. aestivum* L. oraz  $BC_1F_2$  do *Ae. kotschyi* (A.9). W efekcie zastosowanej analizy hierarchicznej obiekty zostały przyporządkowane do dwóch grup odpowiadających mieszańcom  $F_4-F_5$  oraz  $BC_1F_2$ . *Ae. kotschyi* wykazało niewielkie podobieństwo (0,18-0,31) do pozostałych form, co wskazuje, że transfer genów z tego gatunku do pszenicy nie jest łatwy, a analizowane linie powinny, z uwagi na ich zróżnicowanie, stać się materiałem wyjściowym w hodowli pszenicy zwyczajnej. Podobne badania prowadzone były w ramach współpracy z innymi pracownikami Instytutu i dotyczyły oceny podobieństwa genetycznego mieszańców pszenżyta z *Ae. crassa* (A.23) i *Ae. juvenalis* (A.2). Zastosowane metody RAPD (D.23) i ISSR (D.23, A.2) dowiodły mieszańcowego charakteru badanych form, zidentyfikowano specyficzne fragmenty potwierdzające obecność chromatyny *Ae. crassa* (A.23) i *Ae. juvenalis* (A.2) w badanych mieszańcach oraz określono stopień pokrewieństwa rodów w obrębie danej kombinacji krzyżówkowej.

W ramach współpracy prowadzonej w obrębie Instytutu przeprowadzono również analizy zróżnicowania genetycznego *Dasyphyrum villosum* L. (P.) Candargy (D. 19, D.57) oraz polskich odmian pszenżyta ozimego (D.21). Gatunkiem o bardzo dużym poziomie polimorfizmu, wykorzystywanym w hodowli pszenicy, jest *D. villosum*. Celem prowadzonych badań była ocena podobieństwa genetycznego genotypów tego gatunku pochodzących z różnych rejonów Grecji. Średnie podobieństwo Dice'a badanych obiektów obliczone na podstawie polimorfizmu markerów RAPD i ISSR wyniosło odpowiednio 0,854 i 0,871 wykazując niewielkie zróżnicowanie genetyczne ocenianych populacji (D.19). Analizy polskich odmian pszenżyta ozimego dotyczyły głównie odmian wykreślonych z Krajowego Rejestru. Ich celem była ocena zróżnicowania genetycznego tych odmian jako potencjalnych komponentów przyszłych krzyżowań. Średnia wartość podobieństwa genetycznego określona na podstawie polimorfizmu markerów ISSR (0,61) wskazuje na duże zróżnicowanie badanych materiałów i ich potencjał w hodowli twórczej pszenżyta ozimego.

## 6. Podsumowanie dorobku naukowego

Mój dotychczasowy dorobek naukowy obejmuje 124 opracowania, w tym 47 oryginalnych prac twórczych, wśród których 15 opublikowanych zostało w czasopismach z bazy JCR, a 32 w czasopismach spoza bazy JCR. Sumaryczna liczba punktów za oryginalne prace twórcze wg MNiSW, zgodnie z rokiem opublikowania prac, wynosi **528 pkt** (Tabela 1, 2). W moim dorobku znajduje się ponadto 5 rozdziałów w monografiach oraz 5 rozdziałów w podręcznikach akademickich. Jestem współautorem 56 doniesień prezentowanych na międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych, zarówno w formie posterów, jak i referatów. Brałam udział w realizacji 14 projektów badawczych, w tym w trzech pełniłam funkcję kierownika projektu. Odbyłam 1 staż krajowy i 9 staży zagranicznych. Łączna punktacja całego mojego dorobku wg MNiSW wynosi **688 pkt**.

W ujęciu wskaźnikowym mój dorobek naukowo-badawczy przedstawia się następująco:

Liczba publikacji naukowych w bazie Web of Science – **15**

Sumaryczny Impact Factor według listy Journal Citation Reports – **24,061**

Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science – **52 (bez autocytań 43)**

Indeks Hirscha według bazy Web of Science – **4**

Tabela. 1. Zestawienie dorobku naukowego według rodzaju publikacji.

Rodzaj publikacji	Liczba publikacji	Sumaryczny IF	Suma punktów MNiSW w roku wydania
Czasopisma posiadające współczynnik wpływu IF, wyróżnione w Journal Citation Reports (lista A)	15	24,061	365
Czasopisma nieposiadające współczynnika wpływu IF, (lista B)	32	-	163
Rozdziały monografii naukowych w języku polskim	4	-	20
Rozdziały monografii naukowych w języku angielskim	1	-	5
Rozdziały w podręcznikach akademickich	5	-	25
Materiały konferencyjne	56	-	-
Wzory użytkowe - sekwencje DNA	11	-	110
<b>Razem</b>	<b>124</b>	<b>24,061</b>	<b>688</b>
- w tym osiągnięcie	8	14,757	194
- w tym przed doktoratem	2	-	4
- w tym po doktoracie bez osiągnięcia	114	9,304	490

Tabela 2. Zestawienie dorobku naukowego według tytułów czasopism naukowych

Czasopismo	Liczba publikacji	Sumaryczny IF	Suma punktów MNiSW w roku wydania
<i>Czasopisma posiadające współczynnik wpływu IF, wyróżnione w bazie JCR (lista A)</i>			
Acta Scientiarum Polonorum Series Horticultrae	2	1,104	40
Crop Protection	1	1,920	30
Euphytica	1	0,797	20
G3: Genes, Genomes, Genetics	1	2,742	30
Genetics and Molecular Research	1	0,994	15
Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca	1	0,547	15
Plant Disease	5	15,188	175
Romanian Agricultural Research	1	0,458	15
Turkish Journal of Botany	1	0	10
ŻYWNOSĆ Nauka Technologia Jakość	1	0,311	15
<b>Razem</b>	<b>15</b>	<b>24,061</b>	<b>365</b>
<i>Czasopisma nieposiadające współczynnika wpływu IF (lista B)</i>			
Acta Agrobotanica	1	-	8
Acta Agrophysica	2	-	8
Annales UMCS	5	-	41
Biuletyn IHAR	11	-	44
Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis. Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica	4	-	26
Wiadomości Botaniczne	1	-	0
Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych	8	-	36
<b>Razem</b>	<b>32</b>	<b>-</b>	<b>163</b>

## 7. Osiągnięcia związane z działalnością dydaktyczną i organizacyjną

Ważnym elementem mojej pracy zawodowej jest realizowanie procesu dydaktycznego. Od 1998 roku prowadzę zajęcia ze studentami kierunków agronomia, biotechnologia i bioinżynieria z przedmiotów: Genetyka molekularna, Biologia molekularna i Techniki molekularne, dla których opracowałam moduły wykładów i ćwiczeń. W trakcie pracy zawodowej prowadziłam również zajęcia z przedmiotów: Genetyka, Hodowla roślin i nasiennictwo oraz Agrobiotechnologia.

W latach 2006 – 2018 byłam promotorem 31 prac magisterskich studentów z kierunków: biotechnologia i bioinżynieria. W latach 2010 – 2018 sprawowałam opiekę naukową nad 32 studentami studiów stacjonarnych I stopnia, kierunków biotechnologia i bioinżynieria wykonujących prace inżynierskie.

W latach 2014-2018 sprawowałam opiekę nad doktorantem, Panią mgr inż. Sylwią Sową, której przewód doktorski został przeprowadzony na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu na Wydziale Rolnictwa i Bioinżynierii, a nadanie stopnia doktora biotechnologii miało miejsce 23.02. 2018 r.

Od 2005 roku, kiedy zostałam zatrudniona na stanowisku adiunkta, angażuję się również w działalność organizacyjną Wydziału Agrobiotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Pracowałam jako członek w licznych komisjach wydziałowych: ds. przygotowania raportu z samooceny kierunku biotechnologia (2005), ds. Dydaktyki i Wychowania (2005 – 2008), ds. Oceny Jakości Kształcenia (2008 – 2012), ds. Badań Naukowych i Współpracy z Zagranicą (2012 – 2016), ds. Nauki i Komercjalizacji Wyników Badań Naukowych (2016 – 2020). Od 2016 roku jestem również członkiem Komisji Wyborczej Wydziału Agrobiotechnologii oraz członkiem Rady Wydziału Agrobiotechnologii UP w Lublinie.

Lublin, 28.01.2019 r.

