

HALINA WIŚNIEWSKA¹

TOMASZ, GÓRAL²

PIOTR OCHODZKI²

MACIEJ MAJKA¹

DOROTA WALENTYN-GÓRAL²

JOLANTA BELTER¹

¹ Instytut Genetyki Roślin, Polskiej Akademii Nauk, Poznań

² Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Państwowy Instytut Badawczy, Radzików

Kierownik Tematu: prof. dr hab. Halina Wiśniewska Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, Poznań; ul. Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań; tel. 662044293, e-mail: hwis@igr.poznan.pl

Prace zostały wykonane w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi nr HOR.hn.802.18.2018, Zadanie 14.

Badanie typów odporności na fuzariozę kłosów u pszenżyta ozimego za pomocą markerów fenotypowych i metabolicznych

Evaluation of Fusarium head blight resistance types in winter triticale using phenotypic and metabolic markers

Słowa kluczowe: gen *Fhb1*, fuzarioza kłosów, pszenżyto, mykotoksyny

WPROWADZENIE

Odmiany pszenżyta okazują się podatne na fuzariozę kłosów i kumulację w ziarnie toksyn fuzaryjnych. Głównym źródłem odporności jest *locus* cech ilościowych (QTL) *Fhb1* zlokalizowany w krótkim ramieniu chromosomu 3BS, warunkuje wysoką odporność na fuzariozę — obecny w pszenicy Sumai 3. Scharakteryzowany jest również inny QTL — *Fhb2* na 6BS. Ma on znacznie mniejszy wpływ na odporność. Podejmowane są próby poszerzenia zmienności pszenżyta przez wprowadzanie genów z gatunków oddalonych.

CELE PROJEKTU

— Badanie odporności typu I i II na fuzariozę kłosów u pszenżyta z wykorzystaniem markerów fenotypowych.

- Identyfikacja molekularna genu *Fhb1* mieszańców BC₁ i BC₂.
- Ocena odporności na uszkodzenie ziarna (typ III odporności).
- Określenie redukcji parametrów struktury plonu (typ IV odporności).
- Analiza zawartości toksyn fuzaryjnych w ziarniakach (typ V odporności).

MATERIAŁY I METODY

Materiał badawczy

Genotypy pszenżyta ozimego — **temat badawczy 1, 2, 3 i 4** oraz linie pszenżyta z introgresją chromatyny *Triticum monococcum* i substytucjami genomu D pszenicy — **temat badawczy nr 1**

Metody badawcze

- Testowanie metodą inokulacji (oprysk) w warunkach polowych oraz metodą inokulacji punktowej w Radzikowie i Cerekwicy.
- Badanie odporności na infekcję pierwotną (typ I odporności), na rozprzestrzenianie się patogenu wzdłuż osadki kłosowej (typ II odporności). Określanie indeksu fuzariozy kłosów (IFK) (połączone typy odporności I i II) — **temat badawczy nr 1**.
- Analizowanie odporności na uszkodzenie ziarniaków (typ III odporności) — określanie wizualne proporcji ziarniaków uszkodzonych przez *Fusarium* (FDK) i ziarniaków wyglądających zdrowo (HLK) — **temat badawczy nr 3**.
- Określanie redukcji parametrów struktury plonu: (masy ziarna z kłosa (MZK), liczby ziarniaków w kłosie (LZK), masy tysiąca ziarniaków (MTZ), analiza tolerancji czyli odporności na obniżkę parametrów struktury plonu (typ IV odporności) — **temat badawczy nr 3**.
- Analiza zawartości toksyn fuzaryjnych w ziarniakach — deoksyniwalenolu (DON), niwalenolu (NIV), zearalenonu (ZEN) — chromatografia gazowa, (typ V — odporność na kumulację/degradację toksyn fuzaryjnych) — **temat badawczy nr 4**.
- Identyfikowanie molekularne genu *Fhb1* — **temat badawczy 2**.

WYNIKI

Temat badawczy 1

Doświadczenia infekcyjne w IHAR — PIB Radzików i IGR PAN Poznań z około 75 genotypami pszenżyta ozimego wybranymi jako formy o podwyższonej odporności w latach ubiegłych oraz z nowymi uzyskanymi na drodze krzyżowań z różnymi źródłami odporności

Brak opadów w okresie kwitnienia pszenżyta nie sprzyjał rozwojowi fuzariozy. W lokalizacji Cerekwica zastosowano po inokulacji zamgławianie, stąd porażenie kłosów było 3-krotnie wyższe (8,7%) aniżeli w Radzikowie (2,7%). Najniższe IFK poniżej 3,0% odnotowano u 7 genotypów pszenżyta — DANKO 22 (2015), DANKO 6/15, DANKO 20/16, BOH 534-4, DS 1238, BOH 2271-4, MAH 34762-2.

Średnie IFK badanych linii pszenżyta z introgresją chromatyny *T. monococcum* i substytucjami genomu D pszenicy wynosiło 6,8%, porażenie do 4% odnotowano u 8 linii.

Średnia liczba punktów infekcji (typ I odporności) dla 49 genotypów pszenżyta wynosiła 1,9. Najwyższą odporność typu I odnotowano dla genotypów DC 06080-56, BOHD 898-1, MAHD 33404-1, DC 03326/06/2, DS. 9, DANKO 17 (2014), BOHD 1025-2 i MAH 35657-2.

Średnia liczba porażonych kłosek (typ II odporności) dla 49 badanych genotypów wynosiła 2. Najwyższą odporność typu II zanotowano dla genotypów MAH 33544-3, BOH 835-4, DANKO 2 (2014), DANKO 21 (2015), BOH 1062-2, DANKO 10 (2015). Średnia odporność obu typów odporności była najwyższa u genotypów MAH 33544-3, DS. 9, DC 06080-56, DL 593/07, MAH 34359-1 i BOHD 1025-2. Średnia odporność typu I i II korelowała istotnie z IFK w obu lokalizacjach oraz ze średnim IFK.

Temat badawczy 2

Doświadczenia infekcyjne w dodatkowych lokalizacjach. Krzyżowanie wybranych genotypów pszenżyta, rozmnażanie uzyskanych mieszańców

Inokulacja pszenżyta przeprowadzona w lokalizacjach Dębina, Borowo, Małyszyn i Szelejewo wykazała wystąpienie porażenia kłosek tylko w Dębinie. Średni %IFK z lokalizacji Cerekwica i Radzikowo korelował z IFK w Dębinie ($r = 0,430$).

Formy mieszańcowe BC₁ i BC₂ niosące gen odporności na fuzariozę kłosa *Fhb1*, zostały poddane krzyżowaniom wstecznym w celu otrzymania mieszańców pokolenia BC₂ i BC₃. Uzyskano 11 form BC₂ z genem odporności *Fhb1* oraz 56 form BC₃.

Temat badawczy 3

Analiza zebranego materiału pod kątem oceny odporności na uszkodzenie ziarniaków (typ III)

Prażenie ziarna było zróżnicowane. Średni procent FDK masa w Cerekwicy wynosił 11,39% natomiast FDK liczba 18,55%. Dla genotypów ocenionych w Radzikowie średni procent FDK masa wynosił 14,18%, a FDK liczba 14,80%. Najniższą liczbę porażonego ziarna (FDK liczba) odnotowano u genotypu DS.9.

IFK w Poznaniu korelował istotnie z wartościami FDK w Poznaniu i ze średnimi FDK. Podobne były zależności IFK i FDK w Radzikowie. Średnia wartość IFK korelowała z wartościami średnimi FDK masa i FDK liczba.

Średnio najniższą redukcję MZK odnotowano u genotypów MAH 34068-5 (S), DANKO 3/15, MAH 33115-4/1 i DANKO 2/16. Najniższa średnia redukcja MTZ wystąpiła u genotypów BOHD 2027-1, DANKO 3/17, DS. 9, DANKO 13/17 i DANKO 28/17.

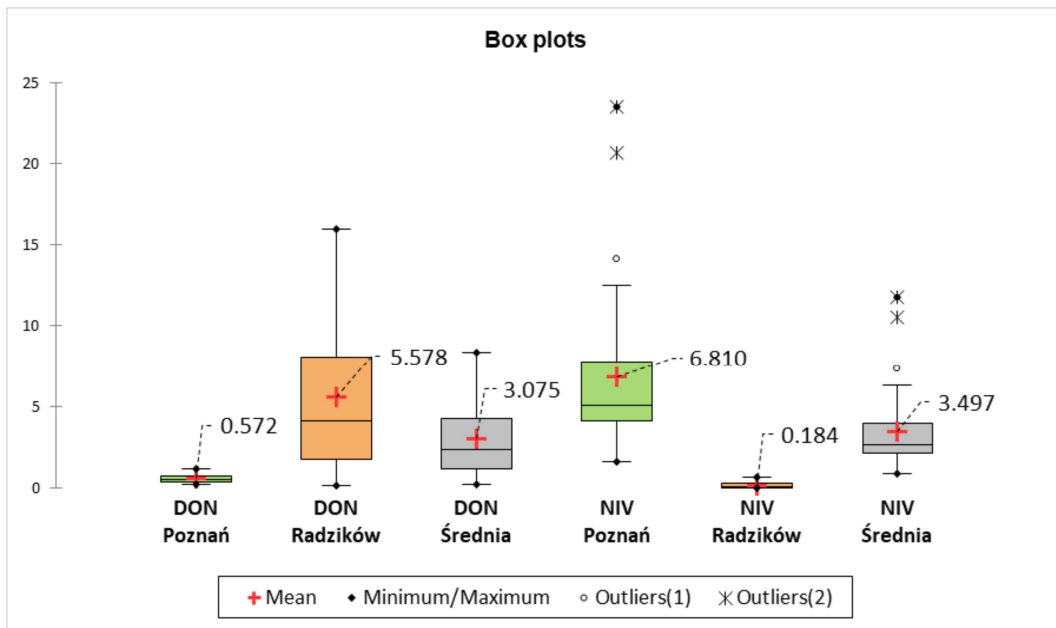
IFK korelował z uszkodzeniem ziarniaków. Uszkodzenie ziarniaków (FDK masa i FDK liczba) korelowało z względną redukcją MTZ.

Temat badawczy 4

Analiza w badanym materiale zawartości toksyn fuzaryjnych w ziarnie, kumulacja/degradacja toksyn (typ V odporności)

We wszystkich próbach ziarna stwierdzono obecność DON, NIV oraz pochodnej acetylowej 3Ac-DON. Brak było 15Ac-DON, a pochodna 3Ac-DON występowała w ilościach śladowych.

W Poznaniu dominował NIV — zawartość ponad 10-krotnie wyższa niż DON-u. W Radzikowie natomiast dominował DON (30-krotnie więcej NIV) (rys. 1).



Rys. 1. Porównanie zawartości DON i NIV w próbach ziarna 39 genotypów pszenżyta pochodzących z Poznania i Radzikowa. Prostokąty pokazują pierwszy kwartył, medianę i trzeci kwartył. Wąsy pokazują dolny i górny limit, poza którym wartości są odstające

Najniższe zawartości DON stwierdzono u genotypów LD 121/08, MAHD 35399-1, BOH 534-4, DANKO 2/17, MAH 34359-1, BOHD 898-1 i odmiany Trefl. Natomiast najniższe zawartości NIV stwierdzono u genotypów DS. 9, BOH 537-2, DANKO 3/17, BOHD 898-1. Sumarycznie najmniej trichotecenów B było w ziarnie genotypów BOHD 898-1, DANKO 3/17, DS. 9, DC 03326/06/2, Trefl, BOHD 1025-2 i MAHD 35399-1.

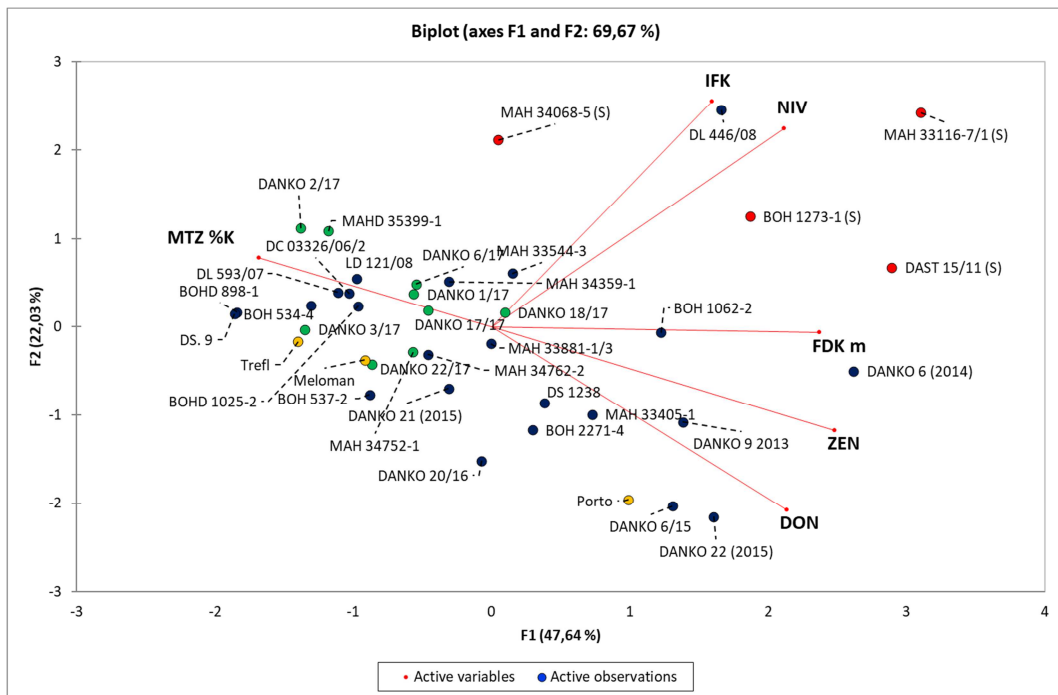
Zawartość ZEN w ziarnie wynosiła średnio 94 µg/kg. W próbach ziarna z Radzikowa było go około 5-krotnie więcej niż w próbach ziarna z Cerekwicy. Najmniej ZEN było w ziarnie genotypów BOH 534-4, MAH 34359-1, BOHD 898-1, DANKO 2/17, LD 121/08, MAHD 35399-1 i DS. 9. IFK korelował z zawartością NIV i sumaryczną zawartością trichotecenów B, nie stwierdzono korelacji z zawartością DON i ZEN. Poziom uszkodzenia ziarniaków korelował z zawartością wszystkich badanych mykotoksyn.

Stwierdzono istotne ujemne współczynniki korelacji MTZ oraz DON, ZEN i sumy trichotecenów B.

PODSUMOWANIE

Analiza wieloczynnikowa pozwoliła na zidentyfikowanie genotypów łączących odporności różnych typów. Są to DS. 9, BOHD 898-1, odmiana Trefl, DANKO 2/17, DANKO 3/17, BOH 534-4, MAHD 35399-1, DL 593/07, DC 03326/06/2, LD 121/08,

BOHD 1025-2, odmiana Meloman, BOH 537-2 i DANKO 22/17. Cztery z nich to nowe genotypy pochodzące w Doświadczenia Wstępne 2017/2018 (rys. 2).



Rys. 2. Układ współrzędnych dwóch pierwszych składowych głównych dla 39 genotypów pszenżyta ozimego. Składowe wyjaśniają 69,67% zmienności odporności na fuzariozę kłosów mierzona indeksem fuzariozy kłosów (IFK), stopniem uszkodzenia ziarniaków (FDK m), względną wartością MTZ (% kontroli) oraz zawartością toksyn fuzaryjnych (deoksyniwalenolu [DON] niwalenolu [NIV] oraz zearalenonu [ZEN]) w ziarnie. Wektory wskazują kierunek wzrostu wartości zmiennych. Na zielono zaznaczono genotypy z DW 17/18, na czerwono wzorce podatne

