

# **Śledzenie zmian w patogeniczności najgroźniejszych chorobotwórczych grzybów rzepaku przy wykorzystaniu technik in vitro i markerów molekularnych**

Nr zadania **6.8**

*Michał Starzycki*

## **Cel pracy w 2008-2013 osiągnięto poprzez:**

- biochemiczną ocenę chorobotwórczości (agresywności) najgroźniejszych dla rzepaku patogenów: *S. sclerotiorum* i *Leptosphaeria* spp. wyizolowanych z miejscowych populacji,
- analizę fitosanitarną materiału siewnego rzepaku w celu wskazania najzdrowszych partii przeznaczonych do siewu,
- doświadczenia zdrowotnościowe rzepaku w wybranych miejscowościach, z których wyizolowano najgroźniejsze patotypy *S. sclerotiorum* i *Leptosphaeria* spp.



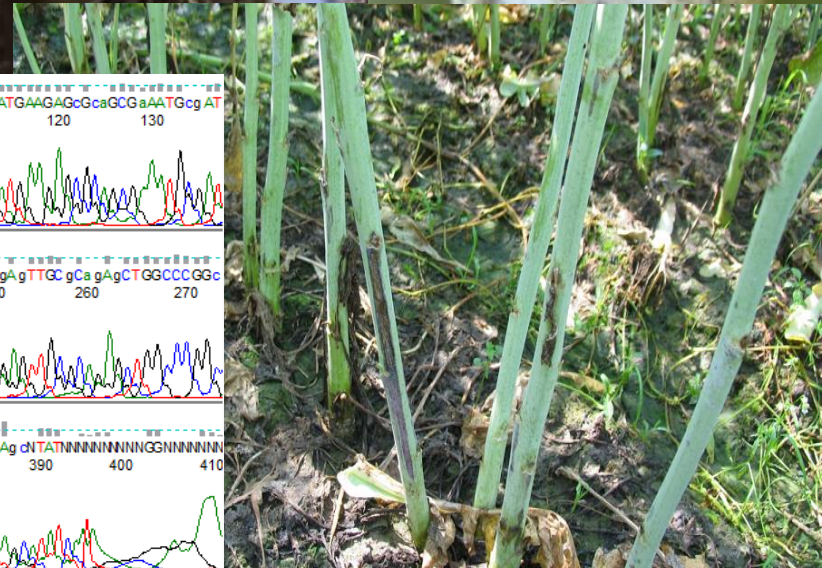
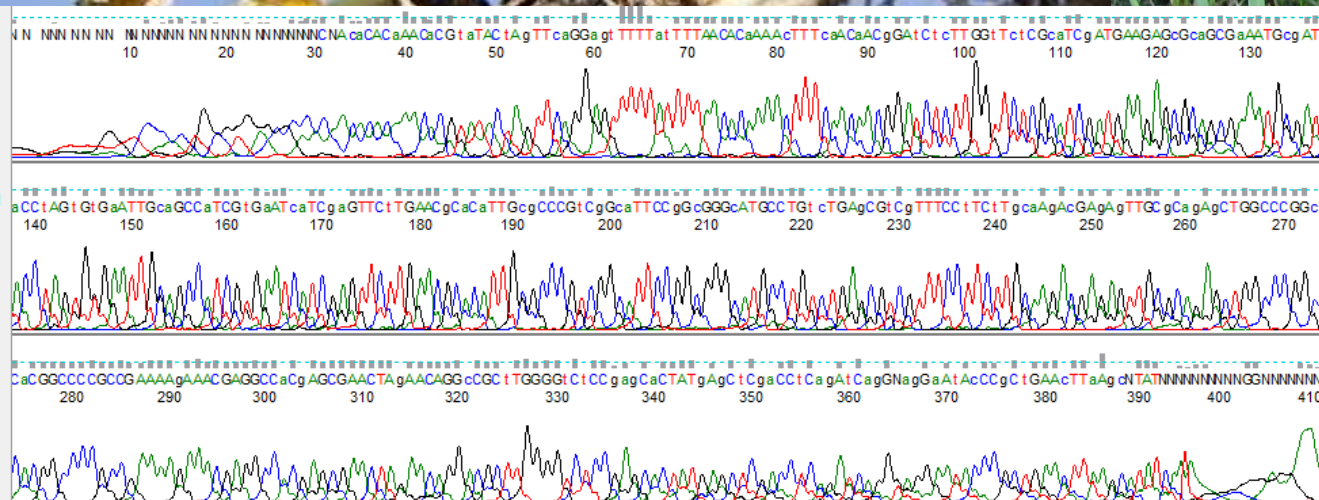
# Sucha zgnilizna kapustnych *Leptosphaeria* spp. w warunkach polowych w okresie wczesnej wiosny



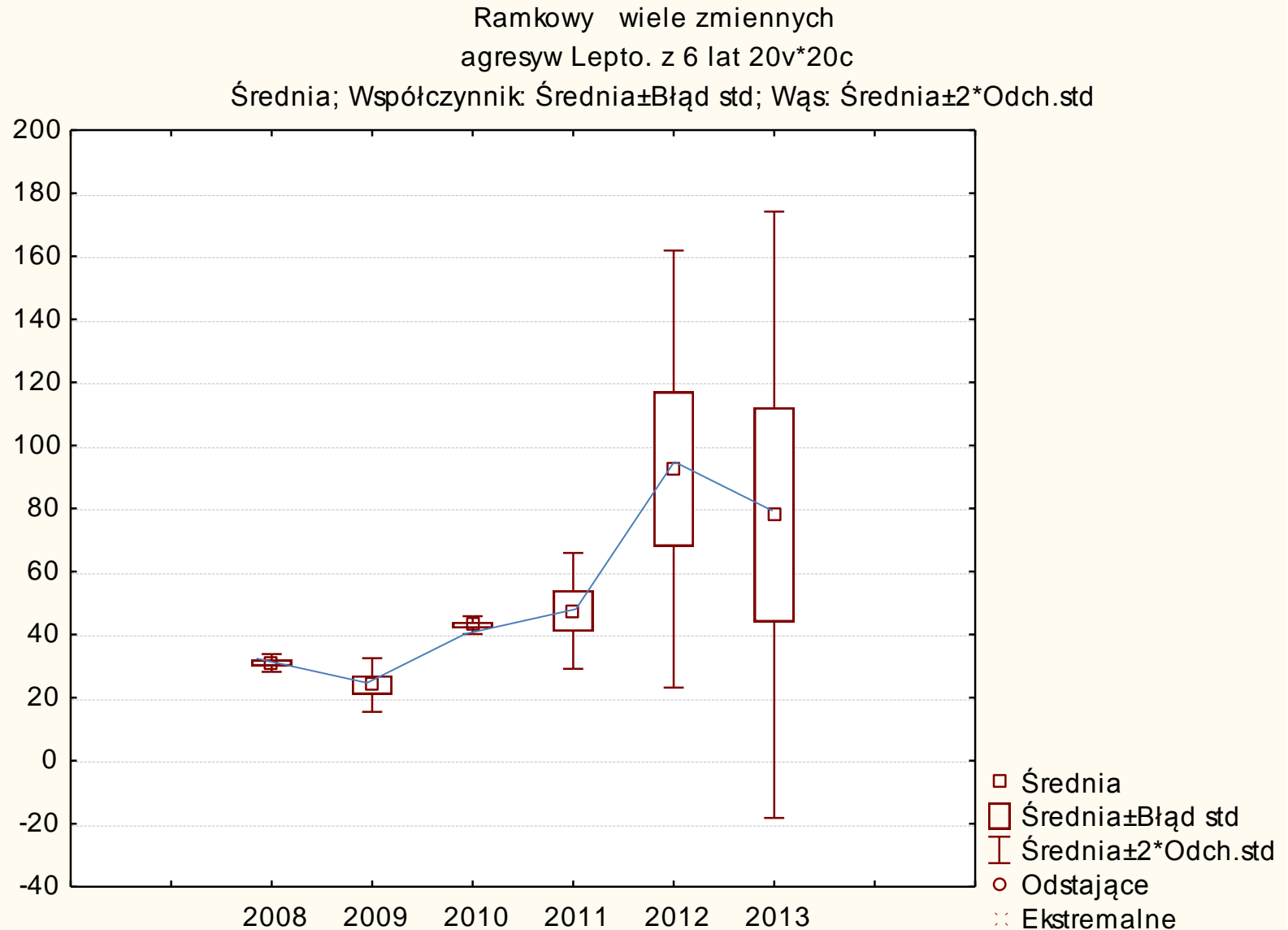


# Sucha zgnilizna kapustnych *Leptosphaeria* spp.

# Molekularna identyfikacja występowania 628 patogenicznych grzybów wobec rzepaku techniką sekwencjonowania ITS1 – ITS4.



**Wykres statystyczny bloku badania in vitro, zmian agresywności suchej zgnilizny kapustnych *Leptosphaeria* spp. w latach 2008-2013** (na podstawie liczby patotypów agresywnych wyizolowanych z określonej powierzchni)



Po ocenie pigmentacji *in vitro* patogeniczności grzybów *Leptosphaeria* spp. wyizolowanych (w liczbie 632) z wybranych miejscowości stwierdzono tym markerem gatunki: *L. biglobosa* 253 (pigmentujące) oraz *L. maculans* 379 (bez pigmentu). Agresywność *Leptosphaeria* spp. oceniano przy użyciu metody grzybniowej *in vitro* przy użyciu liniami DH i odmian rzepaku ozimego ze znanymi genami odporności.

**Na podstawie wykresu statystycznego bloku, zmian agresywności suchej zgnilizny kapustnych *Leptosphaeria* spp. w latach 2008-2013 oraz na podstawie liczby patotypów agresywnych wyizolowanych z określonej powierzchni odnotowano istotny wzrost ich liczebności.**

Po badaniach sekwencjonowania DNA przynależności gatunkowej w obrębie populacji *Leptosphaeria* spp. stwierdzono również proporcjonalne ich występowanie w badanych miejscowościach (ok. *L. maculans* 50% / *L. biglobosa* 50%). Stwierdzono również występowanie innych patogenów niż *Leptosphaeria* spp. np.: *S. sclerotiorum*, *Alternaria* sp. i *Fusarium* sp. i in.

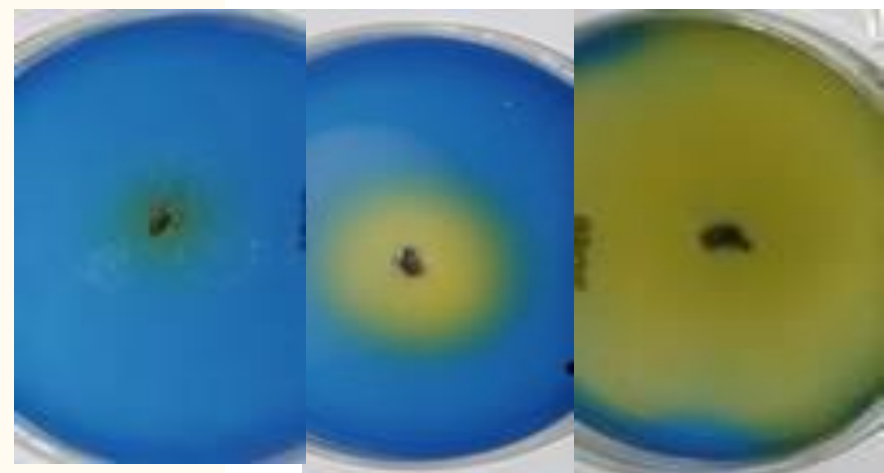
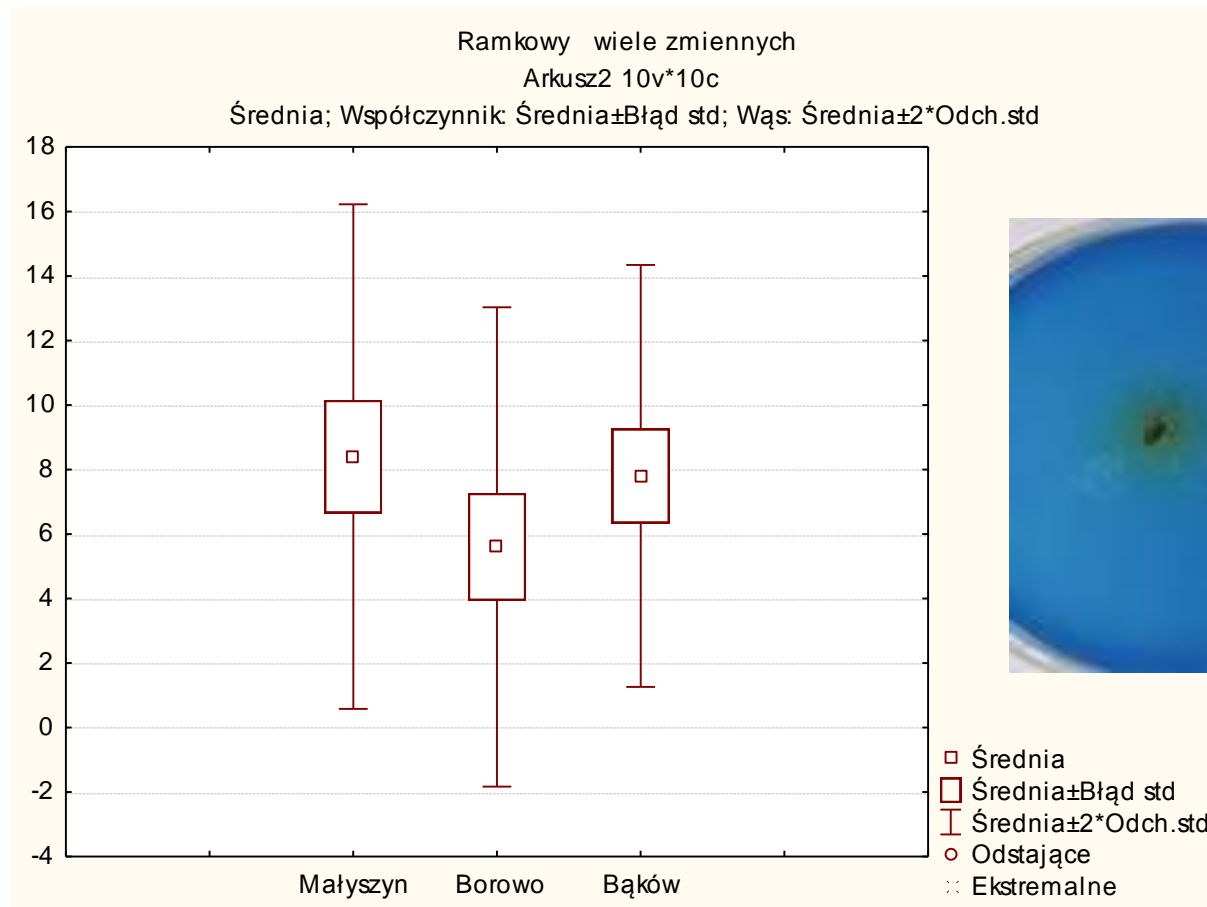
**Powyższe wyniki stanowią ważną informację z punktu widzenia ochrony rzepaku.**



Zgnilizna twardzikowa  
*Sclerotinia sclerotiorum*  
(Lib.) de Bary



# Analiza agresywności 446 patotypów *S. sclerotiorum* w warunkach in vitro, wyrażona zdolnością do zmiany zabarwienia pożywki pod wpływem kwasu szczawiowego

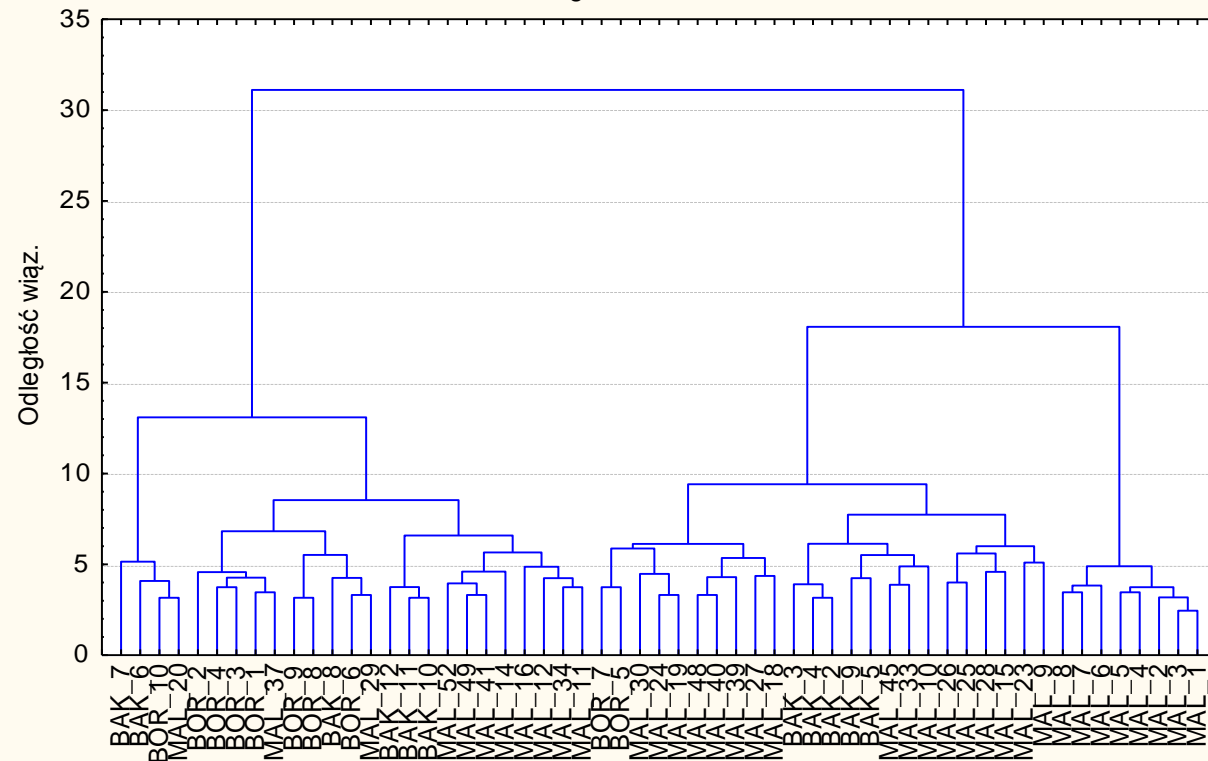


Agresywność oceniona (mm) zdolnością grzyba *S. sclerotiorum* do przerastania pożywki PDA z indykatoem po 48h hodowli. (Badania 2008-2013 na podstawie liczby patotypów agresywnych wyizolowanych z określonej powierzchni).



# Analiza skupień DNA RAPD badanych patotypów *S. sclerotiorum*

Diagram drzewa  
Metoda Warda  
Odległ. euklidesowa



Analizowane przy pomocy RAPD (16 starterów), patotypów agresywnych i nieagresywnych *S. sclerotiorum* na zdolność do nadprodukcji mikotoksyny - kw. szczawiowego.

Po badaniach molekularnych (2008-2013) związanych z agresywnością patotypów *S. sclerotiorum* w analizowanych populacjach na zdolność do produkcji kw. szczawiowego wyróżniono 110 patotypów najbardziej agresywnych pod względem tej cechy. Pozostałe 336 były mniej agresywne. Wykonane analizy techniką badań molekularnych DNA-RAPD PCR (3 317 analiz) wykazały polimorfizm pomiędzy poszczególnymi genotypami *S. sclerotiorum* zależny od miejscowości z której pochodziły.

**Doświadczenia zdrowotnościowe rzepaku w wybranych miejscowościach, z których wyizolowano najgroźniejsze patotypy *S. sclerotiorum* i *Leptosphaeria* spp.**

Badania zdrowotności przeprowadzono na odmianach testowych rzepaku. W Małyszynie w 2008-2013 oceniono 256 odmian w Borowie 337 oraz Bąkowie 260 odmian rzepaku ozimego.

Wyniki odporności poszczególnych odmian rzepaku ozimego, obliczono stosując średni indeks porażenia (IP) oraz przy użyciu testu Duncana na poziomie  $\alpha = 0,05$ . **Otrzymane wyniki oprócz aspektu naukowego posiadają aspekt aplikacyjny informując służby publiczne oraz plantatorów rzepaku o odporności *B. napus* i równocześnie zagrożeniach ze strony odmian podatnych na choroby. Po badaniach w danych regionach wskazano najodporniejsze, u których indeks porażenia (IP) był najniższy.**



**Podczas prowadzonych badań (2008-2013) odnotowano ścisłą zależność pomiędzy miejscowościami, a zróżnicowaniem genetycznym patotypów. Informacja ta jednoznacznie informuje hodowców i plantatorów rzepaku o zagrożeniu rzepaku ze strony *S. sclerotiorum* i *Leptosphaeria* spp. Ekonomiczne korzyści mają charakter wielofunkcyjny w dłuższym okresie czasowym. Poprzez odpowiednio dobrane dla hodowli genotypy *B. napus* oraz wskazanie odporniejszych form dla rolników (w danym regionie), można zaoszczędzić znaczące fundusze związane z ochroną rzepaku.**



## **Przeprowadzono analizy fitosanitarne materiału siewnego rzepaku w celu wskazania najzdrowszych partii nasion.**



Zdrowotność nasion oceniano in vitro na odmianach przeznaczonych do badań PDO. W poszczególnych latach 2008-2013 badano z Małyszyna 256 odmian, Borowa 337 oraz Bąkowa 260 odmian rzepaku ozimego.

Po badaniach pod względem zdrowotności materiału siewnego wybrano odmiany odporne oraz podatne na porażenie powodowane przez najgroźniejsze patogeny grzybowe w danych miejscowościach.

Odnotowano także silną dodatnią korelację późniejszego porażenia roślin rzepaku w warunkach polowych związaną z pierwotnym występowaniem patogenicznych gatunków na nasionach.

**Otrzymane wyniki stanowią ważną informację z punktu widzenia ochrony rzepaku, a ekonomiczne korzyści mają charakter wielofunkcyjny: korzyści środowiskowe (ograniczenie pestycydów) i finansowe związane z oszczędnością wydatków na ochronę roślin.**

**Wygłoszone w latach 2008-2013 referaty szkolenia i wykłady o tematyce odpornościowej rzepaku dla sektora rolniczego posiadają także aspekt ekonomiczny (doraźny i przyszłościowy), społeczny i aplikacyjny.**

**Wygłoszone w latach 2008-2013 referaty i wykłady o tematyce chorób rzepaku:**

**1. Rozwój *Sclerotinia sclerotiorum* i zagrożenia wobec rzepaku powodowane przez tego patogena - 12 wykładów.**

**2. Najważniejsze gospodarczo chorobotwórcze patogeny rzepaku i terminy ich zwalczania 10 – wykładów.**

**3. Patogeniczne grzyby rodzaju *Leptosphaeria* spp. i ich znaczenie gospodarcze 6 -wykładów.**

**4. Rozpoznawanie chorób rzepaku 4 szkolenia.**

**5. Wykorzystanie biotechnologii w ochronie rzepaku przed patogenami.** (W zakresie wykładu omawiane są także zróżnicowania genetyczne patotypów najgroźniejszych dla rzepaku *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary i *Leptosphaeria* spp.) 10 – wykładów.

**6. Analiza sekwencjonowania DNA do odróżniania patogenów 4 – wykłady.**

**7. Rozpoznawanie patogenów rzepaku za pomocą analiz DNA 4 – wykłady.**

• Liczba założonych eksperymentów nad patogenicznością *S. sclerotiorum*: 12 eksperymentów (892 analizy na kwas szczawiowy). Badania polimorfizmu DNA *S. sclerotiorum*: 3 317 analiz.

• Doświadczenia w warunkach polowych nad odpornością na *S. sclerotiorum* oraz *Leptosphaeria* spp.: 18 doświadczeń, liczba analizowanych odmian: 256 odmian w Borowie 337 oraz Bąkowie 260 odmian rzepaku ozimego.

• Badania związane z DNA *Leptosphaeria* spp.: 233 analizy.

• Doświadczenie *in vitro* nad czystością materiału siewnego - analizowano 853 odmiany rzepaku ozimego.

**8. Ogólna liczba wszystkich delegacji i ekspedycji do miejsc z których izolowano patogeny rzepaku: *Leptosphaeria* spp., *S. sclerotiorum* oraz prowadzono badania odporności *B. napus*: 70.**

**9. Uczestniczono w Konferencjach**

**Międzynarodowych: 5.**

**Krajowe 9.**

**Publikacje: 2008 - 2013 publikacje 4 (2 publikacje Phytopatologia, 2 publikacje Rośliny Oleiste).**

**Materiały konferencyjne: 17.**

**Plakatów: 17.**



