

Odporność genotypów pszenicy ozimej na fuzariozę kłosów i akumulację toksyn fuzaryjnych w ziarnie

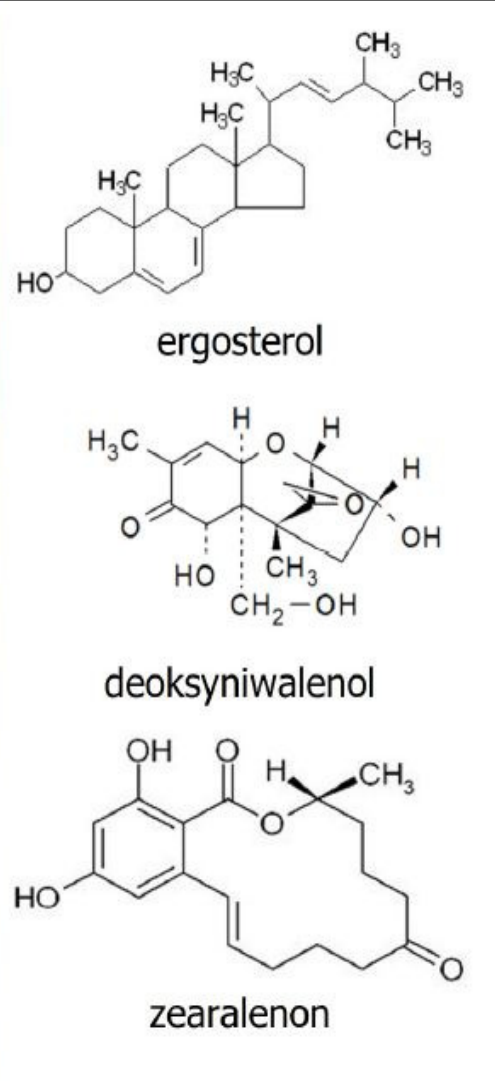
Tomasz Góral¹, Piotr Ochodźki¹, Dorota Walentyn-Góral¹, Jolanta Belter², Maciej Majka², Michał Kwiatek², Halina Wiśniewska²

¹Zakład Fitopatologii, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin PIB, Radzików, 05-870 Błonie; t.goral@ihar.edu.pl

²Zakład Genomiki, Instytut Genetyki Roślin PAN, Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań; hwis@igr.poznan.pl

Wstęp

Fuzarioza kłosów jest chorobą zbóż powodowaną przez kompleks grzybów z rodzaju *Fusarium* (głównie *F. culmorum* i *F. graminearum*). Grzyby te wytwarzają toksyczne metabolity – mikotoksyny. Porażenie kłosa przez *Fusarium* prowadzi do porażenia ziarniaków i akumulacji mikotoksyn w ziarnie. W przypadku spożycia żywności lub paszy wytworzonej z porażonego ziarna stanowią one zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt. Ze względu na ilości stwierdzone w ziarnie zbóż najważniejszymi mikotoksynami są deoksyniwalenol (DON) i zearalenon (ZEA). Na odporność na fuzariozę kłosów pszenicy składa się kilka typów (mechanizmów) odporności: odporność na infekcję (typ I), odporność na rozprzestrzenianie się *Fusarium* w kłosie (typ II), odporność na uszkodzenie ziarniaków przez *Fusarium* (typ III), tolerancja na akumulowane toksyny (niskie porażenie ziarna lub mała redukcja plonu mimo silnego porażenia kłosa lub dużej zawartości toksyn w ziarnie) (typ IV) oraz odporność na akumulację toksyn fuzaryjnych w ziarnie (typ V) poprzez ich chemiczną modyfikację (klasa 1) lub blokowanie syntezy (klasa 2) (Mesterhazy 2002, Boutigny i in. 2007, Foroud i Eudes 2009).



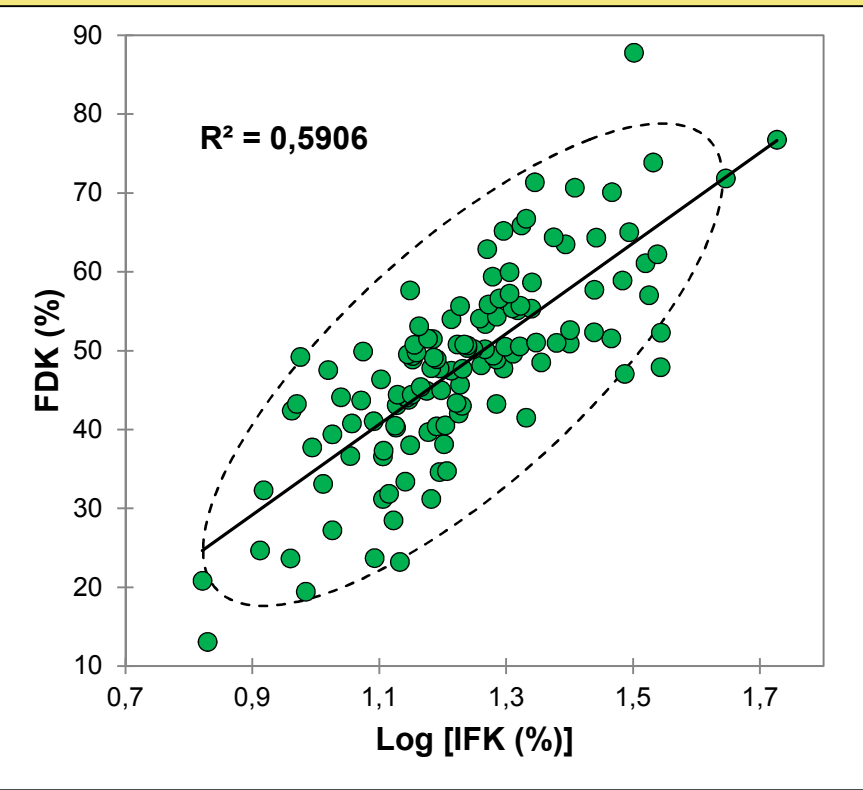
Materiał i metody

W doświadczeniach infekcyjnych w Radzikowie i Cerekwicy badano odporność na fuzariozę kłosów 224 genotypów oraz 10 odmian/linii wzorcowych pszenicy ozimej. Genotypy te pochodziły z programów hodowlanych pszenicy ozimej (153 genotypy - DW 2014) oraz z kolekcji utworzonej w wyniku badań nad odpornością na fuzariozę kłosów w latach 2008-2013 (72 genotypy - odporne). Wzorce stanowiły odmiany wysoko plonujące – KWS Ozon, Patars, Tonacja; linie/odmiany o wysokiej odporności na fuzariozę kłosów - A40-19-1-2, UNG 136.6.1.1, Arina, 20828; genotypy pszenicy o wysokiej podatności na porażenie kłosa w roku 2013 - SMH 8694, SMH 8816, NAD 10079. Kłosy pszenicy w fazie kwitnienia zostały opryskane zawiesiną zarodników. Ocena porażenia rozpoczęła się około 10 dni po ostatniej inokulacji. Nasilenie fuzariozy kłosów (typ odporności I + II) zostało określone na podstawie proporcji porażonych kłosów w kłosie (tylko w kłosach z objawami choroby) oraz proporcji kłosów prażonych na poletku. Z tych wartości wyliczono indeks fuzariozy kłosów (IFK). Po zbiorach, poprzez podział próby ziarniaków na zdrowe i ziarniaki z objawami porażenia, określano proporcje ziarniaków uszkodzonych przez *Fusarium* (FDK) (typ odporności III). Dla 61 wybranych genotypów analizowano zawartość ergosterolu (ERG) (typ odporności III) i trichotecenów z grupy B (deoksyniwalenol [DON], 3-acetyldeoksyniwalenol, 15-acetyldeoksyniwalenol, niwalenol) w ziarnie (typ odporności IV), stosując technikę chromatografii cieczowej i gazowej. Zawartość zearalenonu (ZEA) oznaczano za pomocą ilościowego testu immunoenzymatycznego AgraQuant® ZON (typ odporności IV). Dla 42 genotypów określono dodatkowo oddzielnie odporność typu I i typu II (metodyka – sesja II, poster nr 50).

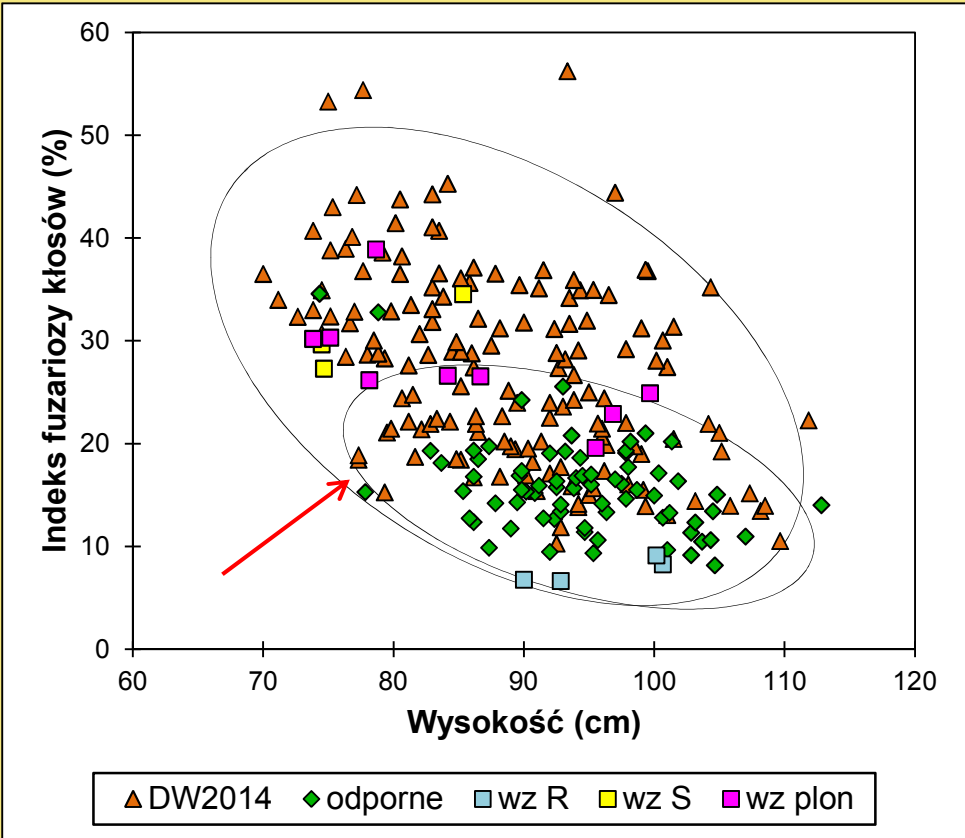
Wyniki

Średnie nasilenie fuzariozy kłosów wyniosło w Cerekwicy IFK = 23,9%, natomiast w Radzikowie IFK = 23,5%. Nie było istotnych statystycznie różnic pomiędzy indeksami fuzariozy kłosów w obu miejscowościach. Współczynnik korelacji pomiędzy IFK w Cerekwicy i IFK w Radzikowie był istotny. Zakres IFK mieścił się w granicach: Cerekwica – 5,9% (STH 1144) -72,5% (KBP_09_38), Radzików – 0,5% (UNG 136.6.1.1) – 54,7% (KBP 11 21). Dla genotypów z grupy DW2104 IFK wyniósł: 28,2% w Cerekwicy i 26,8% w Radzikowie, natomiast dla genotypów z grupy „odporne” było to: 15,1% w Cerekwicy i 16,4% w Radzikowie. Wysokość roślin pszenicy w Cerekwicy była znacznie mniejsza niż w Radzikowie i wynosiła odpowiednio 75,0 cm (52,0 – 102,0 cm) i 105,4 cm (81,7 -136,3 cm). Jedynie 3 genotypy w Cerekwicy miały powyżej 100 cm, natomiast w Radzikowie było to 2/3 genotypów. Jeżeli chodzi o obie badane grupy to „odporne” miały większą średnią wysokość roślin (94,2 cm) w porównaniu do genotypów DW2014 (88,5 cm). W obu lokalizacjach zależności pomiędzy grupami były takie same. Wysokość roślin istotnie, lecz słabo korelowała z IFK w Cerekwicy, natomiast w Radzikowie współczynnik korelacji był wysoko istotny. Średnia wysokość roślin miała istotny negatywny wpływ na nasilenie fuzariozy kłosów.

Genotypy w grupie „odporne” były istotnie słabiej porażane fuzariozą kłosów. W grupie DW2014 zidentyfikowano również genotypy wykazujące odporność np. STH 1144, POB 0513, STH 2041, NAD 11017. Większość tych genotypów charakteryzowała się jednakże wysokością powyżej 90 cm. Genotypy niskie (poniżej 80 cm) miały indeksy FK przeważnie powyżej 25%. Wyjątek stanowiły genotypy DD 137/10-4 NAD 10041, STH 1124, DL 414/10, DL 414/10/6/3 z grupy DW2014 oraz CHD 6651/06 z grupy odpornych.



Rysunek 2. Zależność pomiędzy indeksem fuzariozy kłosów (IFK) a uszkodzeniem ziarniaków (FDK) w Radzikowie i Cerekwicy dla 126 genotypów pszenicy ozimej.



Rysunek 1. Zależność indeksu fuzariozy kłosów od wysokości roślin 72 genotypów wykazujących odporność na fuzariozę kłosów (odporne) oraz 152 nowych genotypów (DW2014) pszenicy ozimej. Strzałką oznaczono genotypy odporne o wysokości poniżej 80 cm.

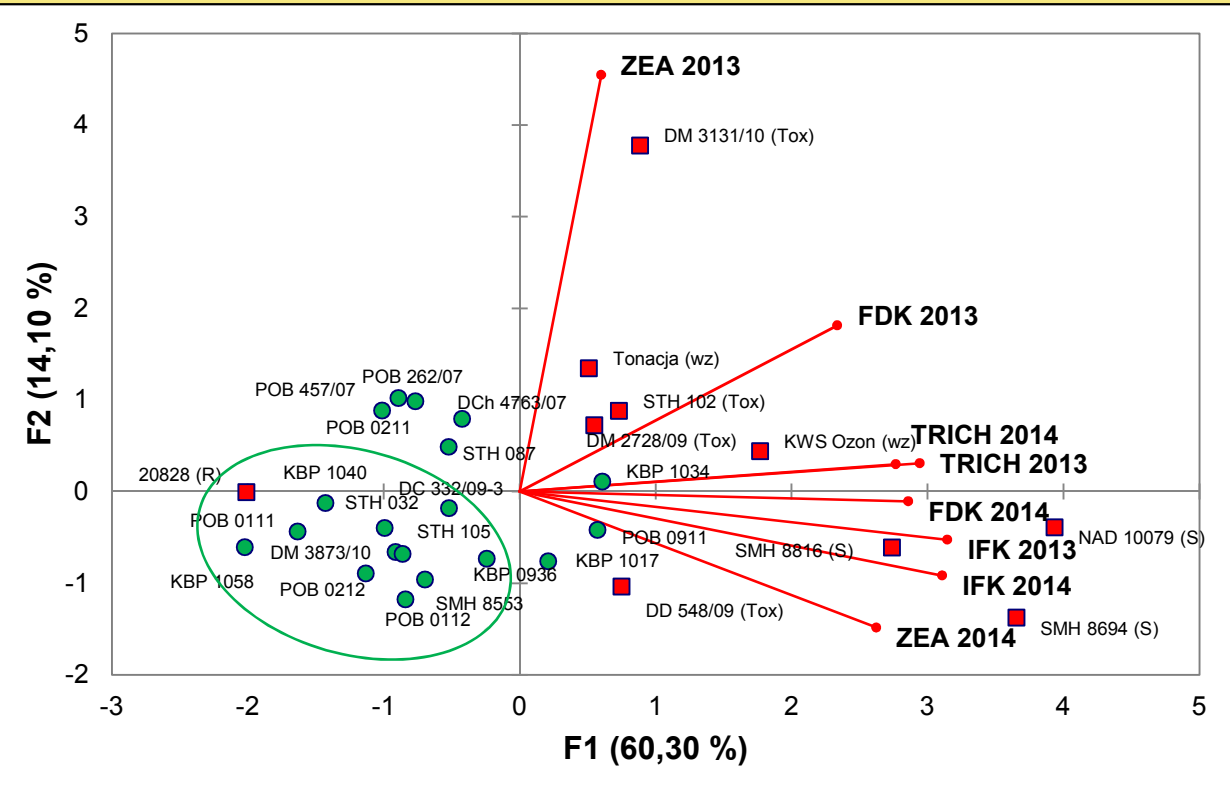
Średnie uszkodzenie ziarniaków 126 genotypów pszenicy w Cerekwicy wyniosło 66,7%. Zakres reakcji mieścił się w granicach od 19,1% (UNG 136.6.1.1, C 3779/10) do 97,0% (SMH 8644). W Radzikowie wartość FDK wyniosła 30,0%. Zakres reakcji mieścił się w granicach od 7,1% (UNG 136.6.1.1, C 3779/10) do 80,9% (SMH 8177). Średnie uszkodzenie ziarniaków korelowało istotnie z logarytmem ze średniego indeksu fuzariozy kłosów ($r = 0,768$) (Rys. 2).

Zmienne	Odp. typu I (#PI)	Odp. typu II (#KP)	Średn. typ I+II	IFK (%)	FDK (%)	ERG (mg/kg)	DON (mg/kg)	ZEA (μg/kg)
Odp. typu II (#KP)	0,012							
Średn. typ I+II	0,763	0,643						
IFK (%)	0,403	0,537	0,655					
FDK (%)	0,256	0,532	0,526	0,773				
ERG (mg/kg)	0,295	0,511	0,542	0,771	0,819			
DON (mg/kg)	0,218	0,428	0,440	0,657	0,765	0,848		
ZEA (μg/kg)	0,237	0,334	0,364	0,565	0,541	0,699	0,585	
DON+ ZEA stnd	0,279	0,344	0,410	0,667	0,626	0,784	0,816	0,792

Tabela 2. Współczynniki korelacji indeksu fuzariozy kłosów, uszkodzenia ziarniaków oraz akumulacji toksyn fuzaryjnych dla 61 genotypów pszenicy z doświadczeń w Cerekwicy i Radzikowa. Zmienne transformowane logarytmicznie. Istotne ($\alpha < 0,05$) współczynniki wyróżnione na czerwono.

Tabela 1. Odporność na fuzariozę kłosów (typ I i II, IFK, FDK) oraz akumulację ergosterolu i mikotoksyn w ziarnie 61 genotypów i odmian pszenicy ozimej inokulowanych izolatami *Fusarium culmorum* w doświadczeniach polowych w Radzikowie i Cerekwicy. Genotypy uszeregowane wg średniej ze standaryzowanych zawartości DON i ZEA.

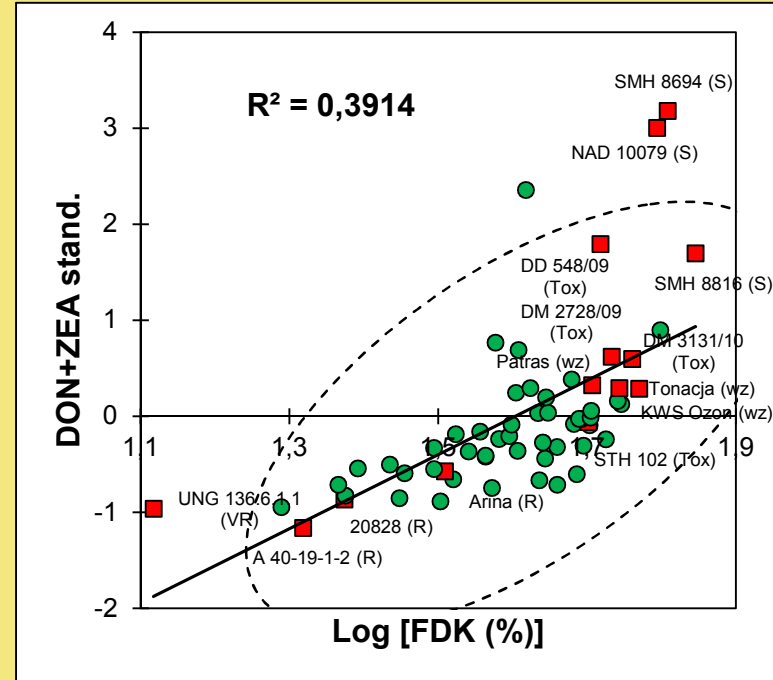
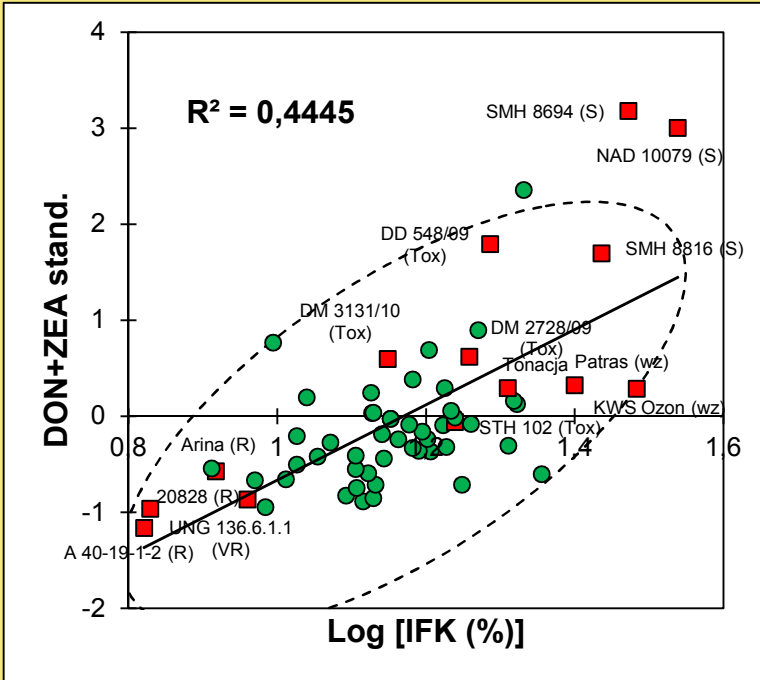
Zawartość ergosterolu ziarnie 61 wybranych genotypów wyniosła średnio 30,9 mg/kg (Tab. 1). Zakres zmienności cechy mieścił się w granicach 8,1 – 79,5 mg/kg. W próbach ziarna z Cerekwicy zawartość ERG była 3-krotnie większa (47,3 mg/kg) niż w próbach z Radzikowa (14,6 mg/kg). Średnia zawartość DON (wraz z pochodnymi) w ziarnie pszenicy ozimej wynosiła 20,515 mg/kg (Tab. 1). Zakres wartości DON wyniósł od 4,055 mg/kg (STH 9059) do 58,654 mg/kg (NAD 11100). W próbach ziarna z Cerekwicy zawartość DON była 20-krotnie większa (38,724 mg/kg) niż w próbach z Radzikowa (2,306 mg/kg). W ziarnie pszenicy nie stwierdzono obecności pochodnej DON – 3AcDON oraz śladowe ilości 15AcDON i niwalenolu. Średnia zawartość zearalenonu w ziarnie pszenicy ozimej wynosiła 932 μg/kg (Tab. 1). W próbach z Radzikowa stwierdzono śladowe zawartości ZEA (poniżej limitu kwantyfikacji), dlatego też nie zostały one uwzględnione w tabelach. Zakres zawartości ZEA mieścił się w granicach od 48 μg/kg (STH 1144) do 6450 μg/kg (NAD 10079 S). Wyliczono współczynnik ERG/DON wskazujący ilość ergosterolu (miernik zawartości grzybni) potrzebną do wytworzenie 1 mg DON. Średnia wartość współczynnika wynosiła 1,51 mg ERG/mg DON. Współczynnik zmieniał się w zakresie od 0,59 (NAD 11100) do 2,37 (POB 0212). Genotypy o niskiej zawartości DON w ziarnie (<15 mg/kg) miały różnicowane wartości ERG/DON np. >2: A 40-19-1-2 (R), STH 9007, KBP 1040, POB 0212, STH 032 lub <1,5: STH 1144, KBP 04.164, NAD 11017. Również wśród genotypów akumulujących większe ilości DON znaleziono obiekty o wartości ERG/DON >2: KWS Ozon (wz), DD 548/09 (Tox) Wysoka wartość współczynnika wskazuje na wyższą odporność typ V.



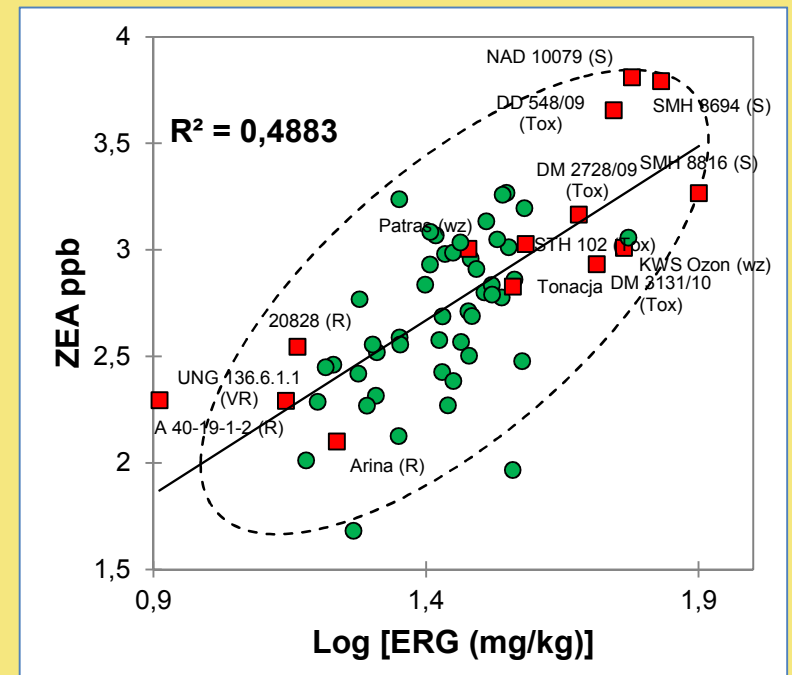
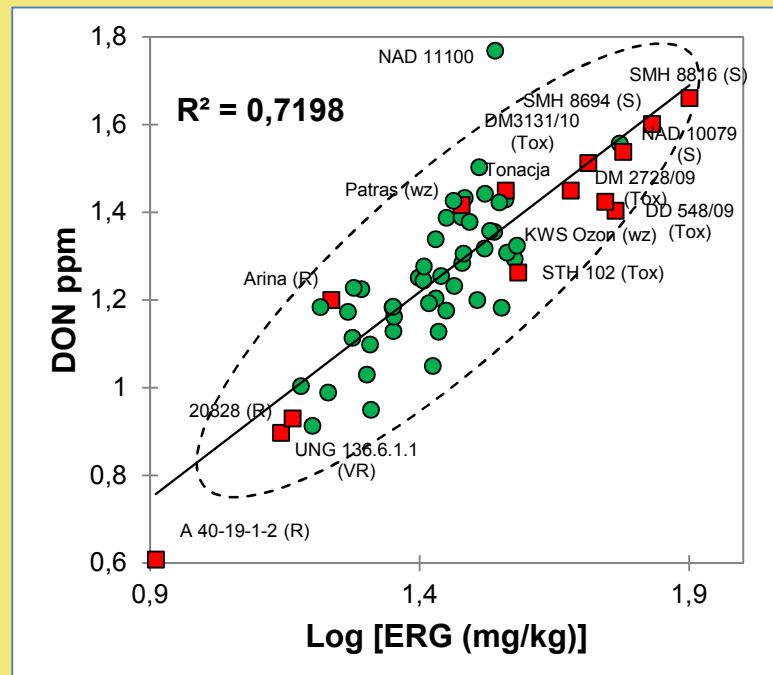
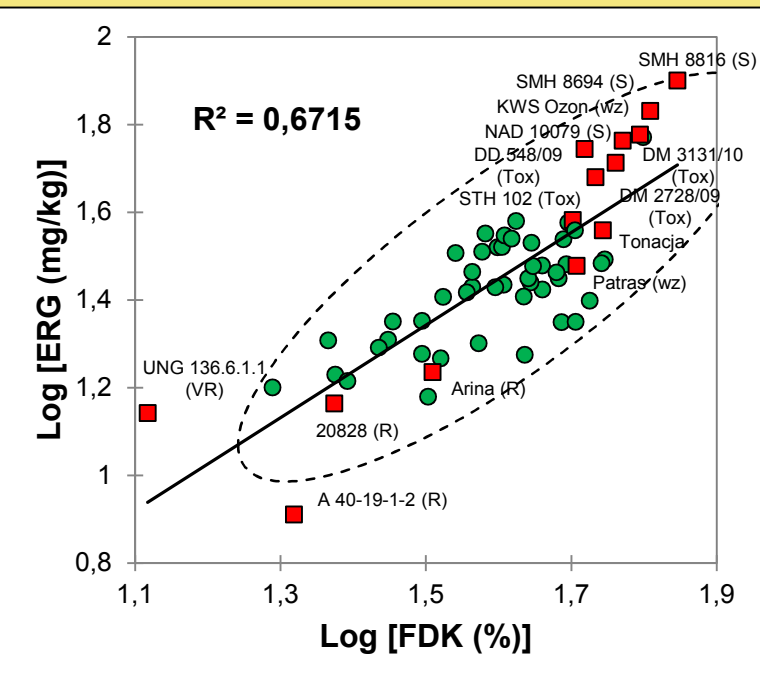
Rysunek 8. Układ współrzędnych dwóch pierwszych składowych głównych dla 29 genotypów pszenicy ozimej. Dwie pierwsze składowe wyjaśniają 74,4% zmienności odporności na fuzariozę kłosów latami 2013 i 2014.

W badanej populacji pszenicy odporność 29 genotypów oceniano również w doświadczeniach infekcyjnych w roku 2013 w Radzikowie i Cerekwicy. Indeksy fuzariozy kłosów, stopień uszkodzenia ziarniaków oraz akumulacja trichotecenów B z obu lat korelowały istotnie (odpowiednio $r = 0,878$, $r = 0,448$, $r = 0,525$). Brak było korelacji z akumulacją zearalenonu z obu lat. Najwyższą odporność wszystkich typów wykazała linia odporna 20828 (R) oraz genotypy KBP 10 40, KBP 10 58 i POB 0111. Pozostałe odporne genotypy oznaczono na Rysunku 8.

Indeks fuzariozy kłosów (IFK) oraz stopień uszkodzenia ziarniaków (FDK) korelowały istotnie z zawartością ERG oraz ilością toksyn fuzaryjnych (DON, ZEA) w ziarnie (Tab. 2, Rys. 3, 4). Najwyższe wartości przyjmowały współczynniki korelacji FDK z zawartością ERG oraz zawartości ERG z akumulacją DON (Tab. 2, Rys. 5, 6) Niższy był współczynnik korelacji ERG z akumulacją ZEA w ziarnie (Rys. 7). Odporność typu I (na infekcję) dla 42 genotypów korelowała jedynie z indeksem fuzariozy kłosów (Tab. 2). Natomiast odporność typu II (na rozprzestrzenianie się *Fusarium* w kłosie) korelowała zarówno z IFK i FDK jak i zawartością ergosterolu oraz toksyn w ziarnie. Odporność typu II wiąże się z czynnikiem niezbędnym dla rozprzestrzeniania się patogena w tkankach. Zdolność do jego produkcji określa agresywność danego izolatu *Fusarium* (*F. culmorum*, *F. graminearum* i innych produkujących DON).



Rysunki 3, 4. Zależność pomiędzy indeksem fuzariozy kłosów (IFK) i uszkodzeniem ziarniaków (FDK) sumaryczną akumulacją toksyn fuzaryjnych (DON, ZEA) w ziarnie 61 genotypów pszenicy ozimej. DON+ZEA = średnia ze standaryzowanych zawartości DON i ZEA. Oznaczono genotypy wzorcowe pszenicy (czerwone kwadraty).



Rysunki 5-7. Zależność pomiędzy uszkodzeniem ziarniaków (FDK) a zawartością ERG w ziarnie oraz pomiędzy zawartością ERG a akumulacją toksyn fuzaryjnych (DON, ZEA) w ziarnie 61 genotypów pszenicy ozimej. Oznaczono genotypy wzorcowe pszenicy (czerwone kwadraty).