

SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE

z realizacji zadania na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w 2015. roku

1. Tytuł zadania: Poszukiwanie oraz wykorzystanie markerów fenotypowych, metabolicznych i molekularnych do badania typów odporności na fuzariozę kłosów u form pszenicy o zróżnicowanej podatności

2. Kierownik zadania: dr Tomasz Góral
Zakład Fitopatologii, IHAR-PIB, Radzików, 05-870 Błonie
tel. 22 7334636; e-mail: t.goral@ihar.edu.pl

Wykonawcy:

Halina Wiśniewska	prof. dr hab.	IGR PAN Poznań
Paweł Czembor	dr hab., prof. IHAR PIB	IHAR-PIB Radzików
Piotr Ochodzki	dr	IHAR-PIB Radzików
Michał Kwiatek	dr	IGR PAN Poznań
Magdalena Radecka-Janusik	dr	IHAR-PIB Radzików

3. Cele zadania:

- 1) Ocena stopnia porażenia kłosów przez *Fusarium* celem wyboru form odpornych pod względem odporności typu I i II.
- 2) Ocena odporności na uszkodzenie ziarna przez *Fusarium* oraz tolerancji genotypów pszenicy na fuzariozę kłosów celem wyboru form odpornych.
- 3) Określenie zawartości ergosterolu (wskaźnik zawartości grzybni) oraz toksyn fuzaryjnych – deoksyniwalenolu i pochodnych, niwalenolu i zearalenonu w ziarnie wybranych genotypów pszenicy wykazujących podwyższoną odporność na porażenie kłosa i uszkodzenie ziarniaków przez *Fusarium*.
- 4) Krzyżowanie wsteczne mieszańców F₁ (uzyskanych w roku 2014) z pięcioma wybranymi genotypami pszenicy ozimej

3. 1. Temat badawczy 1: Fenotypowanie porażenia kłosów pszenicy fuzariozą kłosów (badanie odporności typu I i II)

Cel tematu

Ocena stopnia porażenia kłosów przez *Fusarium* celem wyboru form odpornych pod względem odporności typu I i II. Tworzenie mieszańców z genotypami odpornymi.

Materiały i metody

Odporność na fuzariozę kłosów 262 genotypów pszenicy testowana była w warunkach polowych w IHAR Radzików oraz w IGR PAN w Poznaniu (pole doświadczalne Cerekwica). Materiał badawczy stanowiły genotypy, które wykazały odporność w roku 2015 (71) oraz nowe genotypy (127), z których wybierane były formy odporne. Dodatkowo badane były linie (22) uzyskane z krzyżowań z odmianą Sumai 3 (zawierające lub mogące zawierać gen *Fhb1*) oraz formy wzorcowe (odmiany o wysokim plonie - Artist, Patras, KWS Ozon; odmiany odporne - 20828, A40-19-1-2, Arina, Bizel, Fregata, Olivin, Petrus, Piko, UNG 136.6.1.1).

Doświadczenia polowe zostały założone w układzie losowanych bloków. Pszenica wysiane była na poletkach o powierzchni 0,5 - 1m² w trzech powtórzeniach oraz w kombinacji kontrolnej (nieinokulowanej).

Do produkcji inokulum zastosowano 3 izolaty *Fusarium culmorum*, wytwarzające deoksyniwalenol oraz zearalenon. Izolaty te zostały przetestowane pod względem agresywności wobec pszenicy i pszenżyta i były używane do oceny odporności w warunkach polowych. Izolaty inkubowane były na autoklawowanym ziarnie pszenicy w szklanych kolbach przez około 4 tygodni a następnie były naświetlane ciągłym światłem UV przez 4 do 7 dni w temperaturze 18°C. Ziarno skolonizowane przez *F. culmorum* było następnie suszone i przechowywane w lodówce w temperaturze 4°C do momentu użycia.

W dniu, kiedy wykonywana była inokulacja, ziarno z grzybnią i zarodnikami *F. culmorum* namaczano w wodzie przez około 2 godziny i następnie filtrowano w celu uzyskania zawiesiny zarodników. Stężenie zawiesin zarodników ustalono na około 5×10^5 zar./ml za pomocą hematokrytu. Zawiesiny ze wszystkich izolatów były mieszane w równych proporcjach.

Zastosowano technikę inokulacji przez opryskiwanie (Fot. 1). Pozwoliło to na określenie połączonych typów odporności I (odporność na infekcję) oraz II (odp. na rozprzestrzenianie się patogena w tkankach). Kłosa pszenicy w fazie kwitnienia opryskiwano zawiesiną zarodników w ilości około 100 ml zawiesiny na 1 m^2 . Inokulacja prowadzona była oddzielnie na każdym poletku na początku kwitnienia i powtarzana około 3 dni później w fazie pełni kwitnienia. Inokulacje prowadzone były w godzinach wieczornych, kiedy wzrastała względna wilgotność powietrza. W Cerekwicy zastosowano dodatkowe zamgławianie kłosów przez 72 po inokulacji. Ocena porażenia została rozpoczęta około 10 dni po ostatniej inokulacji. Przeprowadzono dwie oceny w odstępach 7-dniowych. Nasilenie fuzariozy kłosów było określane na podstawie proporcji porażonych kłosów w kłosie (tylko w kłosach z objawami choroby) oraz proporcji kłosów porażonych na poletku. Z tych wartości został wyliczony indeks fuzariozy kłosów (IFK):

$$IFK = (\% \text{ porażenia kłosa} \times \% \text{ kłosów porażonych na poletku})/100$$



Fot. 1. Inokulacja kłosów pszenicy ozimej (z lewej) oraz mikrozaszczep (z prawej) na polu doświadczalnym w Cerekwicy (IGR PAN Poznań).

Badanie odporności typu I (odporność na infekcję) i II (odporność na rozprzestrzenianie się Fusarium w kłosie):

Przebadano odporność 102 genotypów pszenicy ozimej oraz 9 odmian/linii wzorcowych. Dwa doświadczenia przeprowadzone zostały w warunkach częściowo kontrolowanych w tunelach foliowych z instalacją zraszającą.

W celu określenia odporności typu I kłosa pszenicy opryskiwane były zawiesiną zarodników *F. culmorum* o stężeniu 10^5 zar./ml. Po 7-10 dniach od inokulacji oceniana była liczba punktów infekcji na 10 kłosach na poletku (Fot. 2). Po 21 dniach po inokulacji przeprowadzona została dodatkowo ocena indeksu fuzariozy kłosów



Fot. 2. Kłosy pszenicy z objawami fuzariozy kłosów po opryskaniu zawiesiną zarodników *F. culmorum* w celu oceny odporności na infekcję



Fot 3. Inokulacja punktowa kłosów pszenicy w tunelu doświadczalnym w IHAR-PIB Radzików w celu oceny odporności na rozprzestrzenianie się *Fusarium* w kłosie

W celu określenia odporności typu II zastosowana była metoda inokulacji punktowej kłosów (Fot.3). Metoda ta jest używana do szacowania odporności typu II i pozwala na precyzyjne śledzenie rozprzestrzeniania się patogena w kłosie (Buerstmayr i in. 2002, Miedaner i in. 2003). Kłosy inokulowane były w fazie pełni kwitnienia poprzez umieszczanie kropli (ok. 50 μ l) zawiesiny zarodników *Fusarium* w środkowym kwiatku wybranych kłosów za pomocą samo napełniającej się strzykawki. Stężenie zawiesiny wynosiło 50×10^3 zar./ml. Inokulowanych było po 10 kłosów danego genotypu. Nasilenie fuzariozy kłosów oceniane było poprzez określanie liczby kłosków z objawami choroby. Ocena przeprowadzona została 21 dni po inokulacji.

Po inokulacji w tunelach utrzymywano wysoką wilgotność powietrza stymulującą rozwój choroby.

Buerstmayr H., Lemmens M., Fedak G. and Ruckebauer P. 1999. Back-cross reciprocal monosomic analysis of *Fusarium* head blight resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 98: 76-85.

Buerstmayr H., Lemmens M., Hartl L., Doldi L., Steiner B., Stierschneider M. and Ruckebauer P. 2002. Molecular mapping of QTLs for *Fusarium* head blight resistance in spring wheat. I. Resistance to fungal spread (Type II resistance). *Theor. Appl. Genet.* 104: 84-91.

Buerstmayr H., Steiner B., Hartl L., Griesser M., Angerer N., Lengauer D., Miedaner T., Schneider B., Lemmens M. 2003. Molecular mapping of QTLs for *Fusarium* head blight resistance in spring wheat. II. Resistance to fungal penetration and spread. *Theor. Appl. Genet.* 107: 503-508.

Bushnell W.R. 2001. What is known about infection pathways in *Fusarium* head blight? In S. Canty et al. (ed.) *Proceedings of the 2001 National Fusarium Head Blight Forum*. Kinko's, Okemos, MI.

Kubo, K., Kawada, N., Fujita, M. 2013b. Evaluation of Fusarium head blight resistance in wheat and the development of a new variety by integrating type I and II resistance. Jircas. Affrc. Go. Jp. 47: 9–19.

Miedaner T., Moldovan M., Ittu M. 2003. Comparison of spray and point inoculation to assess resistance to Fusarium head blight in multienvironment wheat trial. Phytopathology 93: 1068-1072.

W ramach usługi badawczej prowadzone były doświadczenia infekcyjne w 6 punktach doświadczalnych (Dębina, Kobierzyce, Nagradowice, Polanowice, Smolice, Strzelce). W doświadczeniach przebadano 127 genotypów, badanych równolegle w IHAR Radzików oraz w IGR PAN w Poznaniu. Do inokulacji zastosowano te same izolaty *F. culmorum*, co w IHAR Radzików i IGR PAN. Metodyka doświadczenia była podobna.

Genotypy pszenicy ozimej o korzystnych cechach agronomicznych krzyżowane były z liniami ozimymi z wprowadzonymi genami odporności na fuzariozę kłosów.

Van Ginkel M., Gilchrist L. 2002. How to make intelligent crosses to accumulate Fusarium head blight resistance genes based on knowledge of the underlying resistance mechanisms. In Ward R.W. et al. in. (ed.) Proc. of the 2002 National Fusarium Head Blight Forum, Erlanger, KY. 7-9 Dec. 2002. Michigan State University, East Lansing, MI, USA.

Wyniki

Warunki pogodowe Radzikowie w roku 2015 były niesprzyjające dla rozwoju fuzariozy kłosów (Tabela 1). W okresie przed kwitnieniem oraz w czasie kwitnienia pszenicy (5-10 czerwca) opady nie wystąpiły. Po kwitnieniu wystąpiły niewielkie opady. Podobne warunki utrzymywały się również w lipcu. W sierpniu (do 15) opady nie wystąpiły. W Poznaniu (Cerekwicy) warunki były dużo korzystniejsze dla rozwoju choroby. Opady w czerwcu były 3-krotnie, a w lipcu dwukrotnie wyższe niż w Radzikowie. W sierpniu (suma miesięczna) opady były 10-krotnie wyższe, co wynikało jednakże z jednodniowego opadu o wysokości 53 mm, który wystąpił 15 sierpnia.

Tabela 1. Średnia temperatura i suma opadów w czerwcu, lipcu i sierpniu 2015 w dwóch punktach doświadczalnych (Poznań, Radzików)

Miesiąc	Poznań		Radzików	
	Suma opadów (mm)	Temp. °C	Suma opadów (mm)	Temp. °C
Czerwiec 2015	73,4	16,0	25,2	17,5
Lipiec 2015	70,0	20,0	36,8	20,0
Sierpień 2015	55,9	23,1	4,8	22,6



Fot 4. Objawy porażenia pszenicy przez wirusy żółtej karłowatości jęczmienia (BYDV, CYDV) w Cerekwicy i Nagradowicach k/ Poznania.

Warunki pogodowe w Poznaniu, były korzystne dla rozwoju fuzariozy kłosów, jednakże równocześnie wystąpiła choroba utrudniająca przeprowadzenie doświadczeń. Było to silne porażenie przez wirusy żółtej karłowatości jęczmienia (BYDV, CYDV). Objawami choroby było zahamowanie

wzrostu porażonych roślin oraz przebarwienia liści. Skarłowaciałe rośliny słabo się kłosiły i nie nadawały się do badania odporności na fuzariozę kłosów.

W roku 2015 w Radzikowie wystąpiło silne prażenia pszenicy rdzą żółtą (*Puccinia striiformis*). Objawy wystąpiły u około 34% badanych genotypów odpornych oraz linii odpornych „S”. Choroba u pszenicy występowała jedynie na liściach nie miała, więc bezpośredniego wpływu na ocenę nasilenia fuzariozy kłosów. W przypadku bardzo silnego porażenia rdza żółta obniżała plon ziarna, mogła mieć, więc wpływ na ocenę redukcji komponentów plonu.

Z drugiej strony wystąpienie rdzy żółtej umożliwia eliminację genotypów podatnych na tę chorobę w puli form odpornych na fuzariozę kłosów.



Fot 5. Objawy porażenia pszenicy rdzą żółtą w Radzikowie.

W doświadczeniach infekcyjnych w Cerekwicy i Radzikowie analizowano odporność na fuzariozę kłosów 71 genotypów pszenicy ozimej. Średni IFK w Cerekwicy wyniósł 13,4 %, natomiast w Radzikowie był około 4-krotnie niższy i wynosił 3,6%. Na kłosach 3 wzorców odpornych (20828, A40-19-1-2, UNG 136.6.1.1) oraz genotypu POB 0111 w Radzikowie nie wystąpiły objawy fuzariozy kłosów.

Spośród genotypów badanych w obu lokalizacjach najwyższą odporność wykazały POB 679/03, STH 2041, POB 0111, STH 105, NAD 11053, SMH 7983, POB 170/04. Wysoko odporne były 3 wzorce: 20828 (bez genu *Fhb1*), odmiana Fregata oraz UNG 136.6.1.1 (z genem *Fhb1*). Najwyższą podatność wykazały wzorce podatne: SMH 8694, SMH 8816 oraz

DD 548/09, który w poprzednich latach, charakteryzował się wysoką akumulacją mikotoksyn w ziarnie.

Wysokość roślin istotnie korelowała z IFK w Cerekwicy i w Radzikowie. Genotypy o najwyższej odporności miały w większości wysokość powyżej 100 cm np. POB 679/03. Wśród genotypów o wysokości poniżej 100 cm najodporniejsze były DC 648/09, DD 237/09, NAD 08161 i SMH 8553. W doświadczeniu w Radzikowie słabe porażenia kłosa wykazały też niskie genotypy DD 557/07 i DL 463/07.

Termin kwitnienia pszenicy miał słaby wpływ na nasilenie fuzariozy kłosów w obu lokalizacjach .

Średnie indeksy fuzariozy kłosów dla 72 genotypów i 4 wzorców odpornych badanych w doświadczeniach w roku 2015 i 2014 korelowały istotnie ($r = 0,589$). Zidentyfikowano genotypy o stabilnej reakcji we wszystkich 4 środowiskach np. odporne: UNG 136.6.1.1 (VR), A40-19-1-2 (R), POB 679/03, 20828 (R), POB 0111, Arina (R), POB 170/04, STH 2041, KBP 10 58; podatne: SMH 8980, NAD 11100, DD 548/09 (tox), Patras, NAD 10079 (S), KWS Ozon, SMH 8694 (S), SMH 8816 (S).

W doświadczeniach infekcyjnych w Cerekwicy i Radzikowie analizowano odporność na fuzariozę kłosów 29 linii pszenicy ozimej (linie S) uzyskanych z krzyżowania odmian pszenicy ozimej Begra, Korweta i Turnia z odmianą jarą Sumai 3 zawierającą gen odporności *Fhb1*. Odporność linii porównano z odpornością odmian wzorcowych. Dodatkowo w Radzikowie określono plon ziarna z poletka oraz porażenie rdzą żółtą. Linie S wykazały wysoką odporność na fuzariozę kłosów (średni

IFK 3,4%, zakres zmienności 1,0 -6,1%). W przypadku 22 linii była ona wyższa niż odporność wzorca UNG 136.6.1.1 zawierającego gen *Fhb1*. Linie S charakteryzowały się dość dużą wysokością roślin. Jedynie 2 linie (S 08, S 13) były niższe niż 100 cm. Dla komercyjnych odmian pszenicy średnia wysokość w Radzikowie wyniosła 98,7 cm. Płon ziarna był zróżnicowany. Wahał się w granicach 0,370 – 1,125 kg. Podatność na rdzę żółtą zaobserwowano u 12 linii. Wysoka była podatność 4 linii - S 05, S 40, S 43 [*Fhb1*], S 59. Zaobserwowano wyraźny negatywny wpływ terminu kwitnienia linii oraz porażenia przez rdzę żółtą na plon ziarna (współczynniki korelacji $r = -0,516$ i $r = -0,529$). Za pomocą analizy składowych głównych zidentyfikowano linie łączące korzystne cechy takie jak: odporność na fuzariozę kłosów, odporność na rdzę żółtą, wysoki plon ziarna, wczesność oraz umiarkowana wysokość. Były to linie: S 08, S 09, S 10, S 11, S 12, S 13, S 23, S 24, S 25, S 28, S 29, S 30, S 31, S 32.

W doświadczeniach w 8 lokalizacjach (IHAR Radzików, IGR PAN + 6 punktów doświadczalnych) przebadano odporność 127 genotypów i 3 odmian wzorcowych (Artist, KWS Ozon, Patras) na fuzariozę kłosów. Ze względu na suszę panującą w okresie kwitnienia pszenicy oraz w kolejnych tygodniach w Smolicach wystąpiły bardzo słabe objawy fuzariozy kłosów. W związku z tym nie obserwacji ze Smolic nie włączono do prezentowanych wyników.

Uzyskane uszeregowanie genotypów pod względem indeksu fuzariozy kłosów w poszczególnych lokalizacjach podlegało silnym wpływom środowiska. Najbardziej odbiegały od pozostałych wyniki uzyskane w Cerekwicy. W lokalizacji tej wystąpiły najwyższe opady w okresie kwitnienia pszenicy i w kolejnych tygodniach.

Największa była zgodność średnich wyników uzyskanych w Cerekwicy i Radzikowie z wynikami z Dębiny, Kobierzyc i NAGRADOWIC. Na skutek tych rozbieżności współczynnik korelacji średniego IFK w Cerekwicy i Radzikowie ze średnim IFK z 6 lokalizacji był niski i wynosił $r = 0,322$.

Analiza składowych głównych, w której zmiennymi były indeksy FK z 7 lokalizacji pozwoliła na zidentyfikowanie genotypów wykazujących odporność na porażenie kłosa we wszystkich środowiskach. Były to np.: AND 436/10, DC 406/11, DC 548/11, HRSM 889, NAD 13024, NAD12007, POB 0314, POB0414, SMH 8879, SMH 9000, STH 3225. Znaleziono również genotypy podatne we wszystkich środowiskach. Były to np.: DL325/11/3, STH 1185, STH 1183, SMH 8988.

W dwóch doświadczeniach w warunkach kontrolowanych przebadano odporność typu I i typu II u 80 genotypów oraz 12 form wzorcowych. Średnia odporność typu I wyniosła 1,6 punktów infekcji (pi), zakres zmienności od 1 pi do 3,0 pi. Najwyższą odporność typu I wykazały genotypy: STH 2041, KOH 275, AND 1055/02 oraz wzorce 20828 (R) i Olivin (R). Najniższa odporność została stwierdzona u genotypów KBP 08.13, POB 262/07, DD 557/07, DC648/09 oraz 3 wzorców podatnych w warunkach polowych NAD 10079 (S), SMH 8816 (S), SMH 8694 (S),

Średnia odporność typu II wyniosła 1,9 porażonych kłosów (pk), zakres zmienności od 0,6 pk do 5,0 pk. Najwyższą odporność typu I wykazały genotypy: S 43 [*Fhb1*], POB 1013/10, KBP 10 58 oraz wzorce odporne 20828 (R), A40-19-1-2 (R), UNG 136.6.1.1 (VR) i Arina (MR). Najniższa odporność została stwierdzona u genotypów CHD 6651/06, POB 0911, KBP 10 40, AND 394/07, DC648/09, AND 1055/02 oraz pszenicy twardej Komnata.

Najwyższą średnią odporność obu typów wykazały genotypy S 43 [*Fhb1*], KBP 10 58, POB 1013/10 oraz wzorce odporne A40-19-1-2 (R), 20828 (R), UNG 136.6.1.1 (VR), Arina (MR).

Indeks fuzariozy kłosów w warunkach kontrolowanych wyniósł 58,9%, zakres zmienności od 16,0 do 100%. Najsłabiej porażone były kłosa genotypów S 43 [*Fhb1*], KBP 10 58, STH 105, KOH 275 oraz wzorców odpornych A40-19-1-2 (R), 20828 (R), UNG 136.6.1.1 (VR), Arina (MR). Najsilniej porażone były genotypy POB 0911 i DC648/09, formy podatne SMH 8816 (S), SMH 8694 (S) oraz pszenica twarda Komnata.

Brak było korelacji obu typów odporności. Odporności obu typów korelowały istotnie z IFK w warunkach kontrolowanych oraz z odpornością polową w Radzikowie i Poznaniu (tylko typ I). Najwyższe wartości przyjmowały współczynniki korelacji dla średniej odporności obu typów.

Wykonano krzyżowania plennych odmian pszenicy z liniami ozimymi z wprowadzonymi genami odporności na fuzariozę kłosów oraz z genotypami wykazującymi podwyższoną odporność. Wykonano również krzyżowania dopełniające z mieszańcami uzyskanymi w roku 2014 oraz wysiano rozmnożenie mieszańców pokolenia F₂

Dyskusja

Współczynniki korelacji wysokości roślin z IFK były negatywne, co wskazuje na wolniejszy rozwój choroby na kłosach wyższych genotypów (Buerstmayr i in. 2000). Niższe porażenie wysokich genotypów jest głównie wynikiem morfologii i różnic w mikroklimacie na poziomie kłosa (Mesterhazy 1995, 2002; Yan et al., 2011). Jednak większą podatność niskich odmian może wynikać z obecności genu karłowatości *Rht-D1b* (*Rht2*) (Miedaner i Voss, 2008; Kollers et al., 2013). Jak pokazują wyniki możliwe jest znalezienie form o skróconej słomie odpornych na fuzariozę kłosów.

Odporności typu I i typu II nie korelowały ze sobą, co wynika z różnych mechanizmów tych odporności. Odporność na rozprzestrzenianie się *Fusarium* w obrębie kłosa (typ II) jest głównie związana z odpornością na deoksynivalenol i inne trichoteceny B. Podczas patogenezы fuzariozy trichoteceny są produkowane przez *Fusarium* powodują nekrozę tkanki pszenicy, która następnie jest kolonizowana przez grzybnię *Fusarium* (Gunnaiah i in., 2012). Główny gen odporności na fuzariozę *Fhb1* wyjaśniający 60% zmienności odporności typu II jest również odpowiedzialny za obniżenie akumulacji deoksynivalenolu, a także niwalenolu (Lemmens i in., 2008; Buerstmayr i in., 2009). Odporności obu typów determinowane są przez inne geny. Spośród zmapowanych genów odporności o dużym efekcie dwa (*Fhb1*, *Fhb2*) związane są z odpornością na rozprzestrzenianie się *Fusarium* w kłosie (Cuthbert i in., 2006, 2007), dwa kolejne (*Fhb4*, *Fhb5*) przede wszystkim z odpornością na penetrację (Xue i in., 2010, 2011).

Rozbieżności rezultatów uzyskanych w różnych lokalizacjach wynikały przede wszystkim z wystąpienia warunków pogodowych niekorzystnych dla rozwoju fuzariozy kłosów (Załącznik 4, Rys. 5). Szczególnie dotyczy to odpadów przed i w okresie inokulacji kłosów pszenicy – pierwsza dekada czerwca oraz w początkowym okresie rozwoju choroby (czerwiec) (Cowger i Arellano 2013, Xu i in. 2007). Istotny wpływ warunków pogodowych na rozwój fuzariozy kłosów wskazuje na konieczność przeprowadzania doświadczeń infekcyjnych w co najmniej kilku środowiskach (lokalizacje, lata).

Buerstmayr, H., Steiner, B., Lemmens, M., Ruckebauer, P., 2000. Resistance to *Fusarium* head blight in winter wheat: heritability and trait associations. *Crop Sci.* 40, 1012–1018.

Buerstmayr, H., Ban, T., i Anderson, J. A. 2009. QTL mapping and marker-assisted selection for *Fusarium* head blight resistance in wheat: A review. *Plant Breed.* 128: 1–26.

Cowger, C., and Arellano, C. 2013. *Fusarium* graminearum infection and deoxynivalenol concentrations during development of wheat spikes. *Phytopathology* 103:460–471.

Gunnaiah, R., Kushalappa, A.C., Duggavathi, R., Fox, S., Somers, D.J. 2012. Integrated metabolite-proteomic approach to decipher the mechanisms by which wheat QTL (*Fhb1*) contributes to resistance against *Fusarium graminearum*. 7(7): e40695. doi:10.1371/journal.pone.0040695.

Kollers, S., Rodemann, B., Ling, J., Korzun, V., Ebmeyer, E., Argillier, O., Hinze, M., Plieske, J., Kulosa, D., Ganai, M.W., Röder, M.S., 2013. Whole genome association mapping of *Fusarium* head blight resistance in European winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *PLoS ONE* 8, e57500. doi:10.1371/journal.pone.0057500

Kubo, K., Kawada, N., Fujita, M., 2013. Evaluation of *Fusarium* head blight resistance in wheat and the development of a new variety by integrating type I and II resistance. *JARQ* 47, 9–19.

Lemmens, M., Koutnik, A., Steiner, B., Buerstmayr, H., Berthiller, F., Schuhmacher, R., Maier, F., Schäfer, W. 2008. Investigations on the ability of *Fhb1* to protect wheat against nivalenol and deoxynivalenol. *Cereal Res. Commun.* 36: 429–435

Mesterhazy, A., 1995. Types and components of resistance to *Fusarium* head blight of wheat. *Plant Breeding* 114, 377–386.

Mesterhazy, A., 2002. Theory and practice of the breeding for *Fusarium* head blight resistance in wheat. *Journal of Applied Genetics* 43A, 289–302.

Mesterhazy, A., Toth, B., Kaszonyi, G., 2006. Sources of “environmental interactions” in phenotyping and resistance evaluation; Ways to neutralize them. In: Ban T., Lewis J.M., Phipps E.E. (Eds.), *The global Fusarium initiative for international collaboration – strategic planning workshop held at CIMMYT: El Batan, Mexico, 14–17 March 2006.* pp 84–92.

Mesterházy, A., Tóth, B., Bartók, T., Varga, M., 2008. Breeding strategies against FHB in winter wheat and their relation to type I resistance. *Cereal Research Communications* 36, 37–43.

Miedaner, T., Voss, H.-H., 2008. Effect of dwarfing genes on *Fusarium* head blight resistance in two sets of near-isogenic lines of wheat and check cultivars. *Crop Science* 48, 2115–2122.

Snijders, C. H. A. (1990). Diallel analysis of resistance to head blight caused by *Fusarium culmorum* in winter wheat. *Euphytica*, 50(1), 1–9

Xu, X.-M., Monger, W., Ritieni, A., Nicholson, P., 2007. Effect of temperature and duration of wetness during initial infection periods on disease development, fungal biomass and mycotoxin concentrations on wheat inoculated with single, or combinations of, *Fusarium* species. *Plant Pathol.* 56, 943–956

Yan, W., Li, H.B., Cai, S.B., Ma, H.X., Rebetzke, G.J., Liu, C.J., 2011. Effects of plant height on type I and type II resistance to *Fusarium* head blight in wheat. *Plant Pathology* 60, 506–512.

Wnioski

1. Potwierdzono odporność na fuzariozę kłosów warunkach polowych (typ odporności I+II) większości genotypów z kolekcji from odpornych.
2. Stwierdzono istotny wpływ wysokości roślin na wartość indeksu fuzariozy kłosów.

3. Nie było istotnej zależności pomiędzy odpornością typu I i typu II.
4. Odporności typu I i II słabo korelowały z indeksami fuzariozy kłosów z doświadczeń polowych, wyższe były współczynniki korelacji IFK ze średnią odpornością obu typów.
5. Doświadczenia infekcyjne prowadzone w 8 lokalizacjach pokazały silny wpływ środowiska (susza) na nasilenie fuzariozy kłosów, jednakże zidentyfikowano genotypy o stabilnej reakcji (odporne, podatne) w różnych środowiskach

3. 2. Temat badawczy 2: Analiza zebranego materiału pod kątem oceny odporności na zasiedlanie ziarniaków (typ III odporności) i redukcję elementów struktury plonu (typ V odporności).

Cel tematu

Ocena odporności na uszkodzenie ziarna przez *Fusarium* oraz tolerancji genotypów pszenicy na fuzariozę kłosów celem wyboru form odpornych.

Materiały i metody

W czasie żniw zebranych zostało ręcznie po 20-30 kłosów z poletka w doświadczeniach polowych – dla około 100 wybranych genotypów, wykazujących odporność na fuzariozę kłosów, z 3 poletek inokulowanych i z poletka kontrolnego. Kłosy młócone były ręcznie lub laboratoryjną młocarnią o słabym nawiewie dla zapobieżenia utracie lekkich porażonych ziarniaków. Proporcja ziarniaków uszkodzonych przez *Fusarium* (typ odporności III = FDK) była określana wizualnie poprzez podział próby ziarniaków na ziarniaki zdrowe i ziarniaki z objawami porażenia przez *Fusarium* (Argyris i in. 2003). Wyliczono FDK w oparciu o masę ziarniaków uszkodzonych (FDK masa) oraz ich liczbę (FDK liczba). Określona została redukcja komponentów plonu ziarna w odniesieniu do prób kontrolnych. Oznaczone zostały następujące komponenty: masa ziarna z kłosa, liczba ziarniaków w kłosie, masa tysiąca ziarniaków.

Wyniki

Średnie uszkodzenie ziarniaków przez *Fusarium* wyniosło FDK masa = 12,5% oraz FDK liczba = 14,5%. Zakres zmienności wynosił dla FDK masa od 1,9 do 30,6% oraz dla FDK liczba od 2,3 do 34,8%. Uszkodzenie ziarniaków było zbliżone w Radzikowie i Cerekwicy i wyniosło: Radzików FDK masa = 13,2%, FDK liczba = 13,9%; Cerekwica FDK masa = 11,7%, FDK liczba = 15,0%. Ziarniaki pszenicy w Radzikowie były uszkodzone słabiej niż ziarniaki w Cerekwicy. Wskazuje na to niższa wartość FDK masa i wyższa wartość FDK liczba w Cerkwicy w porównaniu do Radzikowa..



Fot. 6. Uszkodzenie ziarniaków przez *Fusarium* u wysoko odpornej linii pszenicy ozimej S 30.



Fot. 6. Uszkodzenie ziarniaków przez *Fusarium* u średnio odpornej linii pszenicy ozimej AND 340/06.

Najniższe uszkodzenie ziarniaków (FDK liczba < 8%) miały genotypy: S 39 [Fhb1 +], S 42, S 30, Olivin, S 11, LAD 463/05, S 43 [Fhb1+], KBH 4785/04, POB 0114, UNG 136.6.1.1, S 38 [Fhb1-], Fregata, DD 408/07-3, STH 9059, STH 2041. Najwyższe uszkodzenie (FDK liczba > 23%) odnotowano u genotypów: KWS Ozon, SMH 8694 S, STH 087, DM 3873/10, DL 325/11/3 S, POB 0514, SMH 8816 S, STH 3010.

Średnia redukcja plonu ziarna z kłosa (MZK) spowodowana przez *Fusarium* wyniosła około 25%. Wartość MZK w odniesieniu do kontroli wyniosła 76,0%. Zakres zmienności cechy 53,0 – 100%. Liczba ziarniaków w kłosie (LZK) została zredukowana średnio o 20%. Wartość LZK w odniesieniu do kontroli wyniosła 81,6%. Zakres zmienności cechy 56,6 – 100%. Masa tysiąca ziarniaków (MTZ) została zredukowana średnio o 15%. Wartość MTZ w odniesieniu do kontroli wyniosła 86,1%. Zakres zmienności cechy 61,6 – 100%. W doświadczeniu w Cerekwicy redukcja komponentów plonu była znacznie wyższa niż w Radzikowie. Wartości MZK, LZK i MTZ wyniosły odpowiednio w Cerekwicy: 58,5%, 73,2% i 78,8%; w Radzikowie: 94,2%, 90,5% i 93,0%.

Najniższą redukcję masy ziarna z kłosa odnotowano u genotypów: KBP 04164, S 38 [Fhb1-], DED 389/06, LAD 463/05, S 30, AND 400/06, SMH 7983, Arina, UNG 136.6.1.1, MOB ZB 301206.

Indeks fuzariozy kłosów korelował istotnie z uszkodzeniem ziarniaków oraz redukcją komponentów plonu. W przypadku komponentów plonu, najwyższą wartość miał współczynnik korelacji z względną wartością MTZ. Stopień uszkodzenia ziarniaków korelował istotnie z względnymi wartościami komponentów plonu. Najwyższy był współczynnik korelacji z FDK masa z względną wartością MZK.

Zidentyfikowano genotypy łączące odporność na porażenie kłosa (typ I+II), uszkodzenie ziarniaków (typ III) oraz niskiej redukcji plonu (typ V). Były to np. SMH 7983, POB 759/04, Arina, AND 400/06, LAD 463/05, DED 389/06, KBP 04164, UNG 136.6.1.1, S 38 [Fhb1-], S 30.

Dyskusja

Jednym z efektów fuzariozy kłosów jest uszkodzenie ziarniaków objawiające się obniżeniem ich masy, pomarszczeniem, przebarwieniami, a w skrajnych przypadkach całkowitym przerośnięciem grzybnia *Fusarium* (Bechtel i in. 1985, Argyris i in. 2003). Ziarniaki porażone mają obniżoną siłę kiełkowania lub mają całkowicie uszkodzone zarodki oraz mogą zawierać toksyny fuzaryjne (Neuhof i in. 2008). Fuzarioza kłosów może powodować również redukcję plonu ziarna w przypadku bardzo silnej infekcji kłosów powodującej całkowite zahamowanie rozwoju ziarniaków lub silną redukcję ich masy (Yoshida i Nakajima 2010). W przeprowadzonych badaniach stwierdzono istotne zależności pomiędzy nasileniem porażenia kłosa a uszkodzeniem ziarniaków i redukcją plonu ziarna. W porównaniu z rokiem 2014 współczynnik korelacji miały jednakże niskie wartości, co wynikało z

niekorzystnych warunków dla rozwoju fuzariozy kłosów w roku 2015. Szczególnie dotyczy to doświadczenia w Radzikowie

- Argyris J., Van Sanford D., TeKrony D. 2003. *Fusarium graminearum* infection during wheat seed development and its effect on seed quality. *Crop Sci* 43:1782–1788.
- Bechtel, D. B., Kaleikau, L. A., Gaines, R. L., and Seitz, L. M. 1985. The effects of *Fusarium graminearum* infection on wheat kernels. *Cereal Chem.* 62:191-197.
- Mesterházy, A., 2002. Theory and practice of the breeding for *Fusarium* head blight resistance in wheat. *Journal of Applied Genetics* 43A, 289-302.
- Mesterházy, A., Tóth, B., Bartók, T., Varga, M., 2008. Breeding strategies against FHB in winter wheat and their relation to type I resistance. *Cereal Research Communications* 36, 37–43.
- Neuhof, T., Koch, M., Rasenko, T., Nehls, I., 2008. Distribution of Trichothecenes, Zearalenone, and Ergosterol in a Fractionated Wheat Harvest Lot. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 7566–7571.
- Yoshida, M., and Nakajima, T. 2010. Deoxynivalenol and nivalenol accumulation in wheat infected with *Fusarium graminearum* during grain development. *Phytopathology* 100:763-773.

Wnioski

1. Badane genotypy wykazały zróżnicowaną odporność na uszkodzenie ziarniaków przez *Fusarium* (typ III).
2. Indeks fuzariozy kłosów istotnie korelował z uszkodzeniem ziarniaków pszenicy.
3. Fuzarioza kłosów powodowała redukcję plonu ziarna z kłosa (typ V odporności).
4. Stwierdzono istotne korelacje uszkodzenia ziarniaków z redukcją plonu ziarna.
5. Zidentyfikowano genotypy o łączące typy odporności I+II, III i V.

3.3. Temat badawczy 3: Analiza akumulacji/degradacji toksyn fuzaryjnych (typ IV odporności)

Cel tematu

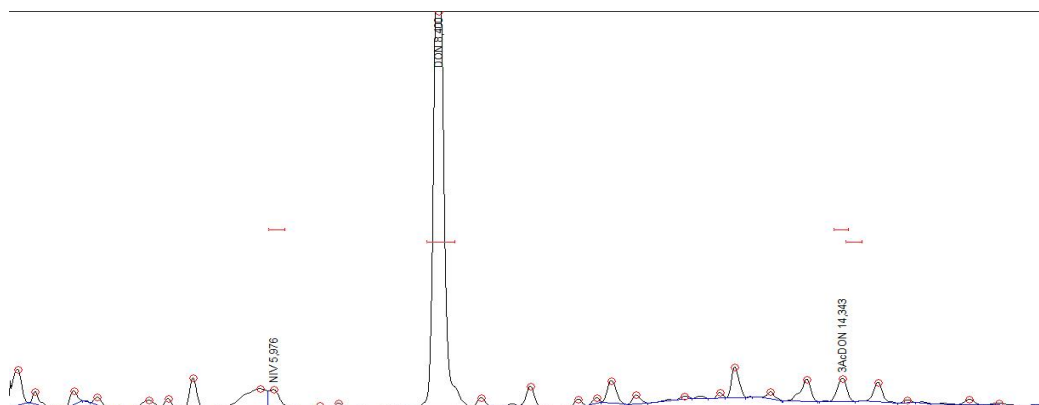
Określenie zawartości ergosterolu (wskaźnik zawartości grzybni) oraz toksyn fuzaryjnych – deoksyniwalenolu i pochodnych, niwalenolu i zearalenonu w ziarnie wybranych genotypów pszenicy wykazujących podwyższoną odporność na porażenie kłosa i uszkodzenie ziarniaków przez *Fusarium*.

Materialy i metody

Ziarno z form o najwyższej odporności i niewielkiej obniżce parametrów plonotwórczych analizowane było pod względem zawartości ergosterolu oraz toksyn fuzaryjnych – deoksyniwalenolu, niwalenolu, zearalenonu (typ IV odporności, poszukiwane markery metaboliczne).

Na podstawie indeksu fuzariozy kłosów w Radzikowie, w Poznaniu wybrane zostały najlepsze genotypy, (około 35), których ziarno było analizowane na zawartość mikotoksyn wytwarzanych przez *F. culmorum*. Próby ziarna pochodziły z doświadczeń polowych Radzikowie i Cerekwicy (razem około 70 prób). Próby ziarna z 3 powtórzeń z każdej lokalizacja zostały zmieszane.

Zawartość ergosterolu określona była metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Ergosterol został wyekstrahowany roztworem metanolu w środowisku alkalicznym przy jednoczesnym zmydłaniu z użyciem promieniowania mikrofalowego. Po neutralizacji roztworu, ergosterol został wyekstrahowany do fazy organicznej za pomocą pentanu. Po wysuszeniu w strumieniu azotu ergosterol był rozpuszczany w metanolu i rozdzielany chromatograficznie techniką HPLC na kolumnie krzemionkowej za pomocą metanolu. Detekcja prowadzona była na detektorze UV. Identyfikacja ergosterolu nastąpiła na podstawie czasu retencji. Ilość ergosterolu została określona na podstawie krzywej kalibracyjnej czystego wzorca (metoda wzorca zewnętrznego).



Rys. 1 Chromatogram deoksyniwalenolu (DON), niwalenolu (NIV) i 3-acetyl deoksyniwalenolu (3AcDON) w ziarnie pszenicy.

Zawartość trichotecenów z grupy B w ziarnie (deoksyniwalenol [DON], 3-acetyl deoksyniwalenol [3AcDON], 15-acetyl deoksyniwalenol [15AcDON], niwalenol [NIV]) była analizowana przy wykorzystaniu techniki chromatografii gazowej (rys. 1). Mikotoksyny były ekstrahowane z 5 g zmielonego ziarna za pomocą 25 ml wodnego roztworu acetonitrylu (acetonitryl:woda 84:16) poprzez wytrząsanie na wytrząsarce przez noc. Próba została odwirowana (3000 obr*min⁻¹, 5 min.), a ekstrakt oczyszczony na kolumnie Trich 227+ (RomerLabs). Do 4 ml oczyszczonego ekstraktu dodano 1 µg wzorca wewnętrznego (chloraloza) i odparowano do sucha w strumieniu powietrza. Mikotoksyny były przeprowadzone w pochodne trimetylosilylowe za pomocą mieszaniny silylującej Sylon BTZ (BSA+TMCS+TMSI, 3:2:3, Supelco). Po rozpuszczeniu upochodnionej próby w izooktanie nadmiar odczynnika silylującego został rozłożony i usunięty za pomocą wody. Warstwa organiczna była przeniesiona do wialki autosamplera i poddana analizie chromatograficznej na chromatografie SRI 8610C, wyposażonym w kolumnę BGB-5MS, o długości 30m. i średnicy wewnętrznej 0,25mm. Gazem nośnym był wodór. Elucja prowadzona była w gradiencie temperatury. Detekcję mikotoksyn przeprowadzono za pomocą detektora wychwyty elektronów (ECD). Identyfikacja poszczególnych związków została wykonana przez porównanie czasów retencji czystych wzorców mikotoksyn. Stężenie mikotoksyn było określone na podstawie krzywej kalibracji, z zastosowaniem chloralozy jako wzorca wewnętrznego. Dla porównania przeprowadzone zostały analizy czystych związków (standardy), prób ziarna nieporażonego oraz próby wzorcowe ziarna ze znaną zawartością mikotoksyn.

Zawartość zearalenonu (ZEA) oznaczana była za pomocą ilościowego testu immunoenzymatycznego (ELISA) AgraQuant® ZON 40/1000 (LOD 10 ppb) (Romer Laboratories) zgodnie z procedurą podaną przez producenta.

Bottalico A, Perrone G, 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *Eur. J. Plant Pathol.* 108: 998–1003.

Mesterhazy A, Bartok T., Mirocha C.G., Komoroczy R. 1999. Nature of wheat resistance to *Fusarium* head blight and the role of deoxynivalenol for breeding. *Plant Breeding* 118: 97-110

Perkowski, J., Wiwart, M., Buśko, M., Laskowska, M., Berthiller, A., Kandler, S., Krska, R, 2007. *Fusarium* toxins and total fungal biomass indicators in naturally contaminated wheat samples from north-eastern Poland in 2003. *Food Additiv Contam.* 24(11), 1292-1298.

Perkowski, J., Buśko, M., Stuper, K., Kostecki, M., Matysiak, A., Szwajkowska-Michałek, L., 2008. Concentration of ergosterol in small-grained naturally contaminated and inoculated cereals. *Biologia.* 63(4), 542-547.

Wyniki

Zawartość ergosterolu (ERG) w ziarnie pszenicy wynosiła średnio 2,9 mg/kg. Zakres zmienności do 1,4 do 4,6 mg/kg. W Poznaniu zawartość ERG była 4-krotnie wyższa niż w Radzikowie, odpowiednio 4,1 mg/kg i 0,9 mg/kg. Najmniej ERG stwierdzono w ziarnie genotypów KOH 275, STH 9059, KBP 10 58, KBP 04.164 i NAD12007; najwięcej w ziarnie genotypu DD 548/09.

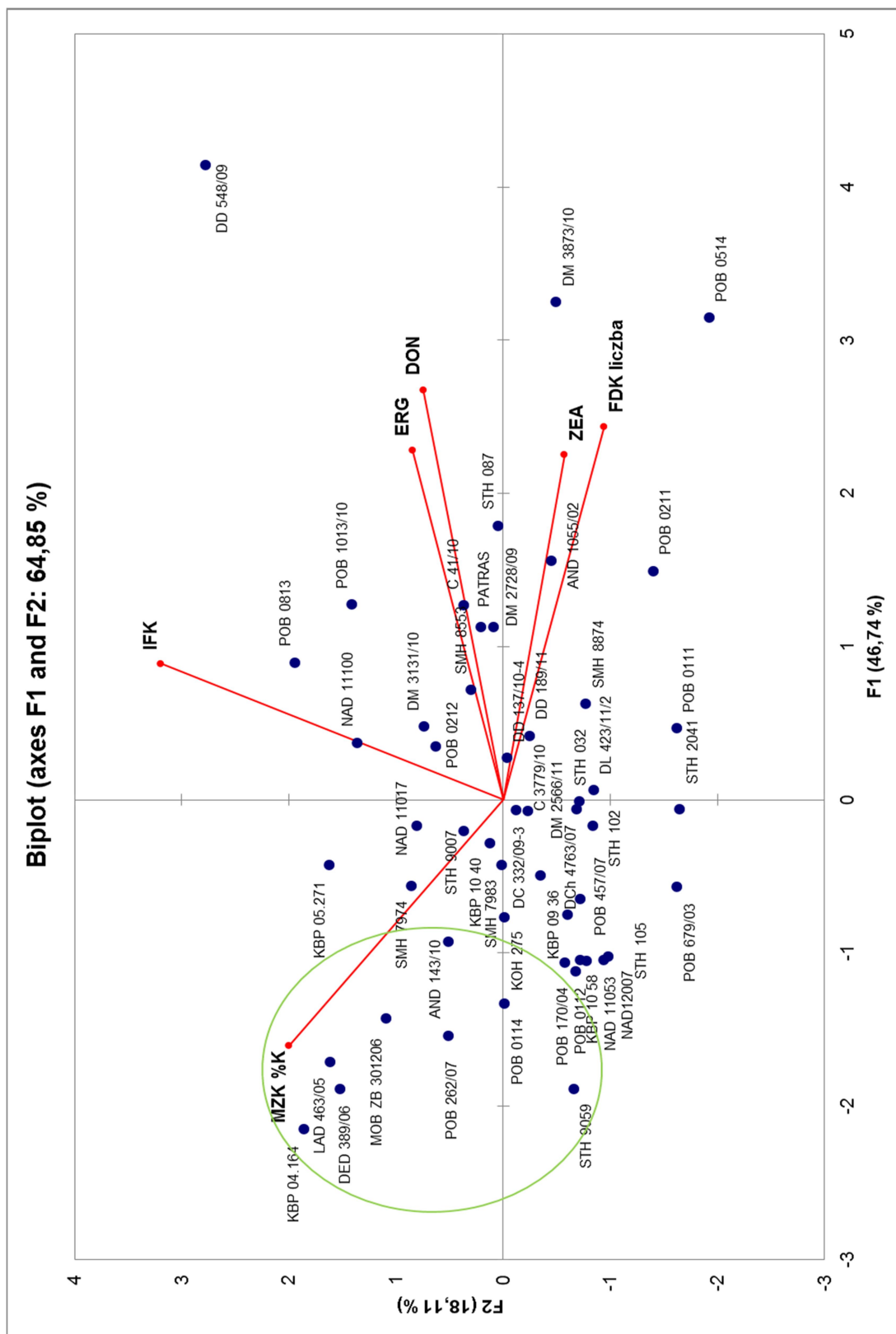
Zawartość deoksyniwalenolu (DON) w ziarnie pszenicy wynosiła średnio 15621 ppb. Zakres zmienności od 480 do 38065 ppb. W Poznaniu zawartość DON była 20-krotnie wyższa niż w Radzikowie, odpowiednio 21114 ppb i 848 ppb. Najmniej DON stwierdzono w ziarnie genotypów DM 2566/11 i STH 9059; najwięcej w ziarnie genotypów DM 3873/10 i DD 548/09. Nie stwierdzono obecności niwalenolu w ziarnie oraz śladowe ilości pochodnych acetylowych DON.

Zawartość zearalenonu (ZEA) w ziarnie pszenicy była bardzo niska i wynosiła średnio 43 ppb. Zakres zmienności od 0 do 148 ppb. W Poznaniu zawartość ZEA była ponad 10-krotnie wyższa niż w Radzikowie, odpowiednio 80 ppb i 7 ppb. Najmniej ZEA stwierdzono w ziarnie genotypów STH 9059, DED 389/06, NAD 11053, DCh 4763/07 i AND 143/10; najwięcej w ziarnie genotypów POB 0514 i DD 548/09.

Indeks fuzariozy kłosów korelował istotnie z zawartością ERG i DON w ziarnie. Współczynniki były niskie. Uszkodzenie ziarniaków korelowało istotnie z zawartościami wszystkich metabolitów *Fusarium*. Najwyższy był współczynnik dla DON. Wysoką wartość miał współczynnik korelacji zawartością ERG (miernik ilości grzybni w ziarnie) z zawartością DON. Niższy, jednakże istotny, był współczynnik korelacji ERG vs. ZEA.

Za pomocą analizy składowych głównych zidentyfikowano genotypy łączące odporności różnych typów, czyli: typy I-II – indeks fuzariozy kłosów, typ III – uszkodzenie ziarniaków i zawartość ERG, typ IV – zawartość toksyn DON i ZEA; typ V – redukcja plonu ziarna (Rys. 2). Były to genotypy:

KBP 04.164, DED 389/06, STH 9059, LAD 463/05, POB 262/07, MOB ZB 301206, POB 0114 i AND 143/10. Genotypy STH 105, NAD12007, NAD 11053, KBP 10 58, POB 0112, POB 170/04 charakteryzowały się niskim porażeniem kłosa i ziarniaków i niską zawartością metabolitów, jednakże miały wyższą redukcję plony ziarna.



Rysunek 2. Układ współrzędnych dwóch składowych głównych dla 45 genotypów pszenicy ozimej. Składowe wyjaśniają 64,85% zmienności odporności na fuzariozę kłosów mierzona indeksem fuzariozy kłosów (IFK), uszkodzeniem ziarniaków (FDK), masą ziarna z kłosa (MZK) oraz zawartością ergosterolu (ERG), zearalenonu (ZEA) i deoksyniwalenolu (DON) w ziarnie w Radzikowie i Cerekwicy. Wektory wskazują kierunek wzrostu wartości zmiennych. Oznaczono genotypy o kumulujące odporności wszystkich typów.

Dyskusja

W roku bieżącym warunki były niesprzyjające dla rozwoju fuzariozy kłosów, na co wskazują niskie wartości poszczególnych zmiennych. Zawartość ergosterolu w Radzikowie była bardzo niska, co wynikało ze znacznie niższych odpadów w porównaniu z Cerkwicą. Nawet, jednakże w tej lokalizacji zawartość ERG była zbliżona do występującej w warunkach naturalnych w ziarniakach pszenicy bez objawów uszkodzenia, a określonej na około 3 mg/kg (Perkowski i in. 2008). Bardzo niska była też zawartość zearalenonu w Radzikowie (obecny w 40% prób) i niska w Cerekwicy (jedynie w 35% prób powyżej limitu 100 ppb dla warunków naturalnej infekcji). Jedynie zawartość DON była wysoka w ziarnie pszenicy z Cerekwicy, z tym że dwukrotnie niższa w porównaniu z rokiem 2014.

Mimo niekorzystnych warunków uzyskane wyniki pokazały, że w badanej populacji pszenicy ozimej pochodzącej z programów hodowlanych polskich hodowli istnieje zmienność odporności na akumulację toksyn fuzaryjnych w ziarnie. Dotyczy to zarówno trichotecenów, mających związek z agresywnością izolatów *Fusarium*, jak i zearalenonu (Lemmens i in. 2004, 2008, Cowger i Arellano 2013). Jest to ważne w przypadku zearalenonu, który kumuluje się w późniejszym etapie rozwoju fuzariozy kłosów niż trichoteceny. Toksyna ta szczególnie niebezpieczna dla zwierząt hodowlanych ze względu na działanie estrogenne (Minervini i Dell'Aquila 2008). Stwierdzono, że istotne były zależności pomiędzy porażeniem kłosa, uszkodzeniem ziarniaków a zawartością toksyn w ziarnie. Dzięki temu wydaje się możliwe wyselekcjonowanie genotypów łączących odporności różnych typów (Tamburic-Ilincic i in. 2011). Genotypy takie są stabilne w różnych warunkach pogodowych i wykazują odporność zarówno na spadki plonu ziarna jaki i skażenie ziarna przez toksyny powodowane przez fuzariozę kłosów (Burlakoti i in. 2010).

Burlakoti, R.R., Mergoum, M., Kianian, S.F., Adhikari, T.B., 2010. Combining different resistance components enhances resistance to Fusarium head blight in spring wheat. *Euphytica* 172, 197–205.

Cowger, C., Arellano, C., 2013. *Fusarium graminearum* infection and deoxynivalenol concentrations during development of wheat spikes. *Phytopathology* 103, 460–471.

Lemmens, M., Buerstmayr, H., Krska, R., Schuhmacher, R., Grausgruber, H., Ruckebauer, P., 2004. The effect of inoculation treatment and long-term application of moisture on Fusarium head blight symptoms and deoxynivalenol contamination in wheat grains. *European Journal of Plant Pathology* 110, 299–308.

Lemmens, M., Koutnik, A., Steiner, B., Buerstmayr, H., Berthiller, F., Schumacher, R., Maier, F., Schafer, W., 2008. Investigations on the ability of *Fhb1* to protect wheat against nivalenol and deoxynivalenol. *Cereal Research Communications* 36(B), 429–436.

Minervini, F., Dell'Aquila, M. E. (2008). Zearalenone and reproductive function in farm animals. *International Journal of Molecular Sciences*, 9(12), 2570–84.

Neuhof, T., Koch, M., Rasenko, T., Nehls, I., 2008. Distribution of Trichothecenes, Zearalenone, and Ergosterol in a Fractionated Wheat Harvest Lot. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 7566–7571.

Perkowski J, Buško M, Stuper K, Kostecki M, Matysiak A, Sz wajkowska-Michalek L (2008) Concentration of ergosterol in small-grained naturally contaminated and inoculated cereals. *Biologia (Bratisl)* 63:542–547

Tamburic-Ilincic, L., Falk, D.E., Schaafsma, A., 2011. *Fusarium* ratings in Ontario Winter Wheat Performance Trial (OWWPT) using an index that combines Fusarium head blight symptoms and deoxynivalenol levels. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* 47, 115–122.

Wnioski

1. Badane genotypy wykazały zróżnicowaną odporność typu IV.
2. Zidentyfikowano genotypy pszenicy wykazujące odporność typu IV.
3. Stopień uszkodzenia ziarniaków (FDK) korelowały istotnie z zawartością E|RG, DON i ZEA w ziarnie.
4. Zidentyfikowano genotypy łączące podwyższony poziom odporności różnego typu.

3. 4. Temat badawczy 4

Cel tematu badawczego 4

Celem tematu było krzyżowanie wsteczne mieszańców F₁ (uzyskanych w roku 2014) z pięcioma wybranymi genotypami pszenicy ozimej. Cel został w pełni zrealizowany.

Materiały i metody

W roku poprzednim uzyskano pięć populacji mieszańcowych F₁ po skrzyżowaniu dawcy odporności linii AIII62 (pochodzącej od Muszelki+Fhb1) oraz pięciu biorców: SMH8527, DL414/10, STH1178, MIB11262 i NAD10041. W roku bieżącym, należało pokolenie F₁ z danej kombinacji krzyżować wstecznie z odpowiednim rodzicem wypierającym (biorcą). W związku z tym, siewki wybranych obiektów jarowizowano (8 tygodni w temp. 4°C), a następnie prowadzono w kontrolowanych

warunkach komory klimatycznej: 16 godzin światła/22°C oraz 8 godzin ciemności/18°C. W odpowiedniej fazie rozwojowej kłosa (przed kwitnieniem) formy mateczne (mieszańce F_1) kastrowano i po upływie 4-6 dni zapylano pyłkiem odpowiedniej formy ojcowskiej (linie biorców). Po dojrzewaniu kłosów zebrano nasiona pokolenia F_1BC_1 z poszczególnych kombinacji krzyżówkowych.

Wyniki

Liczbę nasion pokolenia F_1BC_1 zebranych z poszczególnych kombinacji krzyżówkowych przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Liczba nasion pokolenia F_1BC_1 zebranych po skrzyżowaniu F_1 i biorcy genu *Fhb1* w poszczególnych kombinacjach.

L.p.	Kombinacja	Liczba nasion
1.	(SMH8527 × AIII62) × SMH8527	274
2.	(DL414/10 × AIII62) × DL414/10	261
3.	(STH1178 × AIII62) × STH1178	243
4.	(MIB11262 × AIII62) × MIB11262	245
5.	(NAD10041 × AIII62) × NAD10041	256

Dyskusja

W hodowli roślin krzyżowania wsteczne (wypierające) są szeroko stosowaną metodą wprowadzania jednej lub kilku cech jednocześnie do genotypów o wysokiej wartości użytkowej (biorca), które tych cech są pozbawione (Michalik 2010). Zazwyczaj źródłem korzystnych cech (o które chcemy ulepszyć nasze materiały) są odmiany/linie (dawcy), które dodatkowo zawierają bardzo wiele niepożądanych cech. Stąd wynika konieczność wykonania wielu cykli krzyżowań wstecznych i selekcji, które w ostatecznym rozrachunku pozwalają uzyskać nowy, ulepszony o wprowadzaną cechę genotyp, który jest zbliżony genetycznie do rodzica wypierającego.

Wykorzystanie markerów molekularnych w krzyżowaniach wstecznych (ang. Marker Assisted Backcrossing, MABC) (Collard i Mackill 2008) zdecydowanie zwiększyło efektywność selekcji pożądanych genotypów. W rozszerzonej wersji MABC, poza selekcją roślin w populacji mieszańcowej, które zawierają marker molekularny sprzężony z wprowadzanym (docelowym) genem (ang. Foreground Selection, FS), dodatkowo poszukuje się obiektów dla których doszło do rekombinacji pomiędzy markerem flankującym i wprowadzanym genem, tzw. selekcja rekombinantów (ang. Recombinant Selection, RS). Zasadniczym celem tak pomyślanej selekcji jest zmniejszenie rozmiarów segmentu chromosomu dawcy zawierającego pożądany gen, co ma zapobiec wprowadzeniu do genomu biorcy wielu niepożądanych genów, które mogą być z nim sprzężone (Collard i Mackill 2008).

W przypadku badań prowadzonych w ramach niniejszego tematu, gen *Fhb1* będzie wprowadzany na drodze dwóch krzyżowań wstecznych. Teoretycznie, aby otrzymać po dwóch krzyżowaniach wstecznych przynajmniej jednego osobnika heterozygotycznego dla markera centralnego i homozygotycznego dla flankujących markerów (gwm389 i cfp1274, chromosom 3B) w typie alleli rodziców wypierających należy w każdym pokoleniu (tj. F_1BC_1 i F_1BC_2) przebadac przynajmniej po 62 osobniki przy poziomie prawdopodobieństwa $P = 0,99$ (Hospital 2001, Hospital i Decoux 2002). Uzyskane w bieżącym roku liczebności nasion pokolenia F_1BC_1 (243 – 274) w pełni zabezpieczają liczbę form matecznych, które po selekcji molekularnej (na obecność genu *Fhb1*) będą wykorzystane do krzyżowania wstecznego w kolejnym roku realizacji tematu.

Literatura

- Collard B.C.Y., Mackill D.J. 2008. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Phil. Trans. R. Soc. B* (2008) 363: 557–572
- Hospital F. 2001. Size of donor chromosome segments around introgressed loci and reduction of linkage drag in marker-assisted backcross programs. *Genetics* 158: 1363–1379.
- Hospital F., Decoux G. 2002. Popmin: a program for the numerical optimization of population sizes in marker-assisted backcross programs. *J. Hered.* 93: 383–384.
- Michalik B. 2010. Hodowla roślin z elementami genetyki i biotechnologii. PWRiL, wyd. I.

Wnioski

- Otrzymana liczba nasion w poszczególnych kombinacjach krzyżówkowych pokolenia F_1BC_1 zapewnia wykonanie koniecznych analiz molekularnych i krzyżowań wstecznych w następnym roku realizacji tematu.

