



Nr zadania: **33**



Poszukiwanie form kukurydzy o wysokiej odporności na fuzariozę kolb i zgorzel podstawy łodygi powodowane przez grzyby z rodzaju *Fusarium* spp.

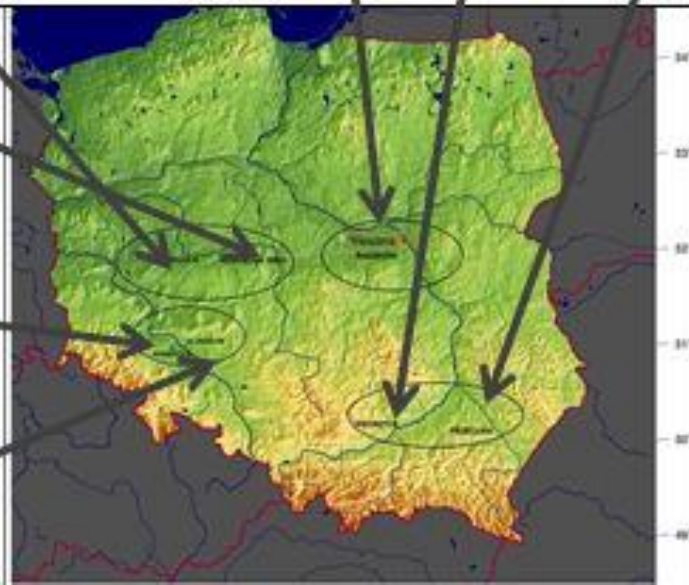
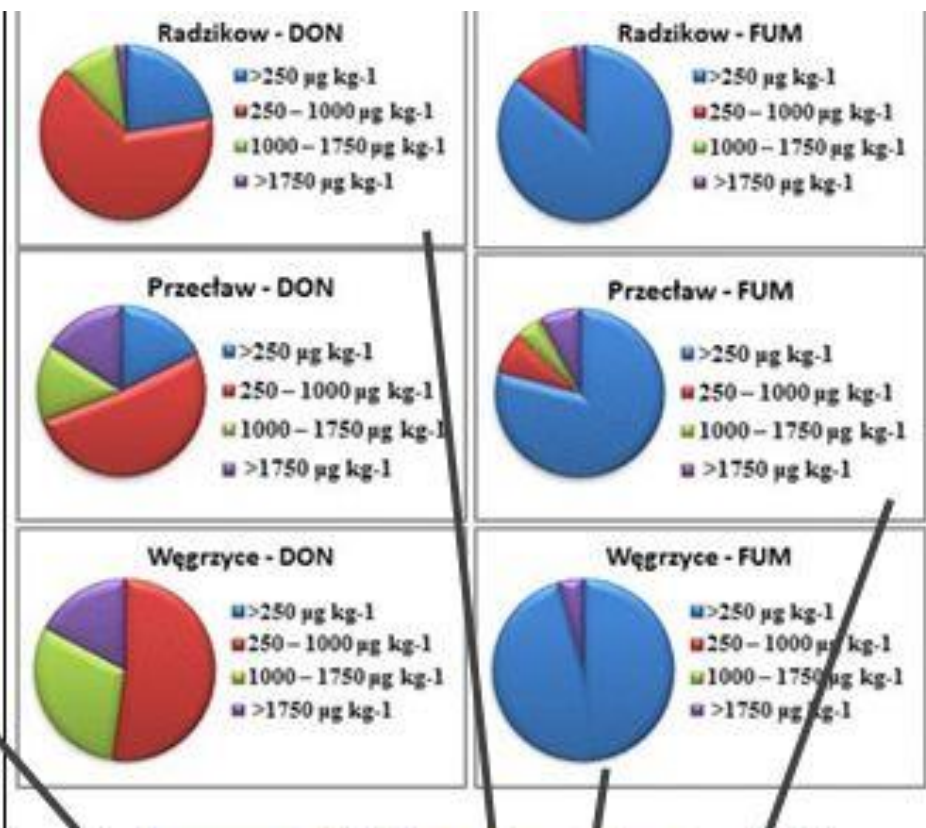
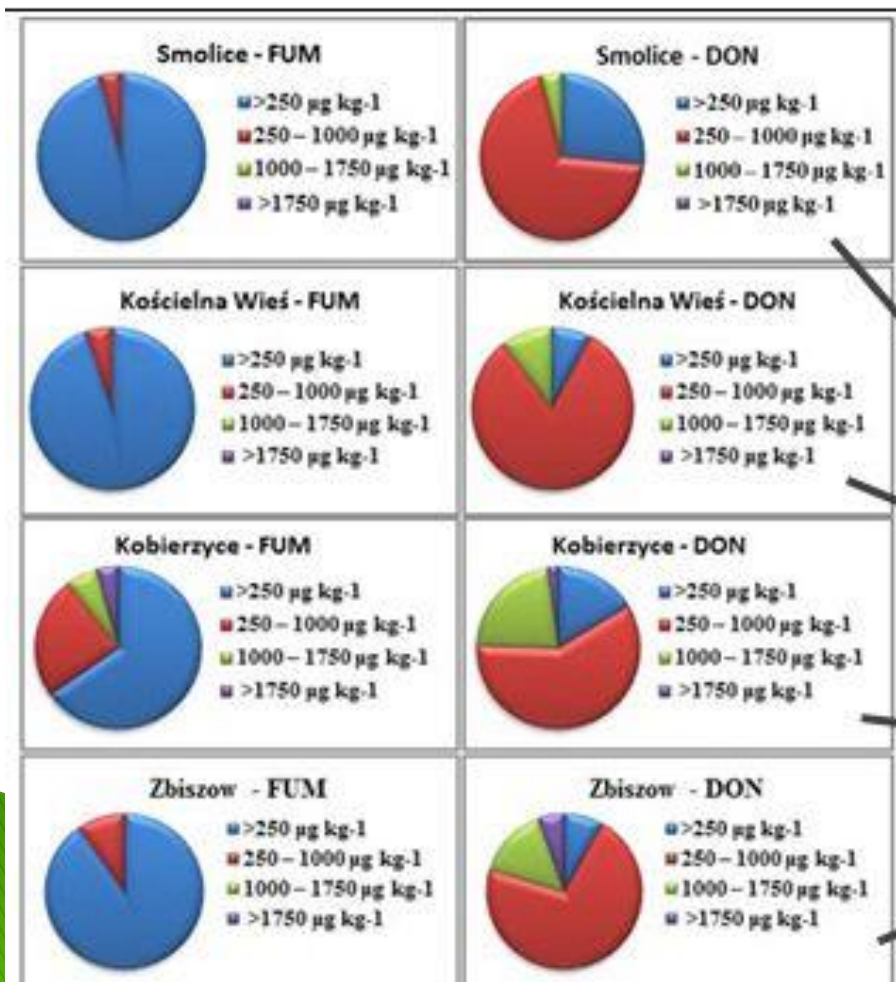
Dr. hab. Elżbieta Kochańska – Czembor, prof. nadzw. IHAR-PIB

Wstęp - uzasadnienie prowadzonych badań

- Fuzarioza kolb i zgorzel podstawy łodygi mają wpływ nie tylko na plon uzyskiwanego ziarna lub zielonej masy, lecz w sposób istotny warunkują jego jakość.
- Sprawcami są metabolity wtórne grzybów z rodzaju *Fusarium* spp., które są wysoce szkodliwe dla ludzi i zwierząt, powodując groźne choroby a nawet śmierć.
- W Polsce, w skrajnych przypadkach, porażenie roślin zgorzelą podstawy łodygi może lokalnie sięgać nawet 100%, a straty ilościowe w plonie ziarna wynoszą 60-70%.
- Z danych z poletek doświadczalnych wynika, że przy porażeniu roślin na poziomie 30-40% i wyleganiu spowodowanym na poziomie 15-20%, straty ilościowe w plonie ziarna sięgają 20%, i należy je powiększyć o straty jakościowe.
- W Polsce straty ilościowe w plonie ziarna powodowane przez fuzariozę kolb są niższe (sięgają ok. 10-20%), ale przy znacznym pogorszeniu jego parametrów jakościowych dyskwalifikuje je jako nie nadające się na cele konsumpcyjne bądź paszowe, ze względu na wysoką zawartość mikotoksyny.
- Zarówno w badaniach własnych jak i w doniesieniach literaturowych stwierdzono, że nie ma genotypów odpornych na fuzariozę kolb oraz na akumulację toksyn, a znalezienie ich raczej nie będzie możliwe

Zagrożenie skażenia ziarna kukurydzy na terenie Polski – średnie dla 2008 – 2012,

Na podstawie wyników badań w ramach Programu Wieloletniego p.t. „*Ulepszanie Roślin dla Zrównoważonych AgroEkoSystemów, Wysokiej Jakości Żywności i Produkcji Roślinnej na Cele Nieżywnościowe*”



Cel główny badań

Celem prowadzonych badań jest identyfikacja cech morfologicznych pełniących ważną rolę w procesie odpornościowym kukurydzy na fuzariozę kolb i zgorzel podstawy łodygi powodowanych przez grzyby rodzaju *Fusarium* spp.



Cele szczegółowe

Lp.	Cel	czy cel został zrealizowany
1	Identyfikacja cech fenotypowych roślin pełniących ważną rolę w procesie odpornościowym kukurydzy na fuzariozę kolb lub zgorzel podstawy łodygi	TAK
2	Określenie efektu heterozji dla stopnia odporności na fuzariozę kolb i zgorzel podstawy łodygi oraz wpływu form rodzicielskich na stopień odporności potomstwa - charakterystyka pokoleń F_1	TAK
3	Badanie efektywności poszukiwania źródeł odporności w oparciu o oceny stopnia porażenia kolb lub łodyg (<i>Cykl I</i>)	TAK
4	Uzyskanie pokoleń F_2 do dalszych badań nad efektywnością poszukiwania źródeł odporności w oparciu o cechy fenotypowe roślin w połączeniu z ocenami porażenia kolb lub łodyg (<i>Cykl II</i>)	TAK

Zakres merytoryczny zadania został osiągnięty poprzez:

Temat badawczy 1

- Identyfikacja cech fenotypowych pełniących ważną rolę w procesie odpornościowym kukurydzy na fuzariozę kolb lub zgorzel podstawy łodygi

Temat badawczy 2

- Określenie efektu heterozji dla stopnia odporności na fuzariozę kolb i zgorzel podstawy łodygi oraz wpływu form rodzicielskich na stopień odporności potomstwa

Temat badawczy 3

- Badanie efektywności poszukiwania źródeł odporności w oparciu tylko o oceny fenotypowe porażenia kolb lub łodyg

Temat badawczy 4

- Pozyskanie pokoleń F_2 do badań nad efektywnością poszukiwania źródeł odporności kukurydzy na fuzariozę kolb lub zgorzel podstawy łodygi w oparciu o cechy fenotypowe roślin i oceny porażenia kolb lub łodyg

Cel tematu badawczego 1

Określenie współzależności pomiędzy odpornością linii wsobnych na fuzariozę kolb ocenioną na podstawie dynamiki rozwoju choroby i zdolności do kumulacji toksyn na przestrzeni czasu a innymi cechami fenotypowymi roślin oraz pomiędzy odpornością linii wsobnych na zgorzel podstawy łodygi a innymi cechami fenotypowymi roślin

Cele zostały osiągnięte w 100%

Czyli: interakcja gospodarz x patogen



Mierniki dla tematu badawczego 1

➤ *interakcja gospodarz x patogen*

Lp.	miernik	wartość miernika planowana	wartość miernika zrealizowana
1	Liczba badanych linii	10	10
2	Liczba testów fitopatologicznych (polowych)	2	2
3	Liczba opisanych cech fenotypowych	8	8
4	Liczba prób przebadanych na zawartość toksyn (DON)	120	120

Materiały i metody

Opis cech morfologicznych i fenologicznych gospodarza

- wczesność (liczba dni od daty siewu do daty kwitnienia kwiatostanów męskich,
- morfologia kwiatostanów żeńskich: długość kolby (cm), długość kanału słupków (cm), długość słupków nie pokrytych liśćmi okrywowymi (cm),
- zawartość antocyjanu w słupkach, ziarnie, osadkach i łodygach (skala 1-5, w której 1 oznacza brak antocyjanu, 3 – formy pośrednie, 5 – intensywne zabarwienie)
- złożoność kwiatostanu męskiego
- wysokość roślin



Temat badawczy 1 – interakcja genotyp x patogen

Testy fitopatologiczne – *in vivo*

Fuzarioza kolb

- namnażanie grzyba – pożywka PDA
- przygotowanie zawiesiny zarodników - inokulum
- zakażenia sztuczne - inokulacja - 7 dni od kwitnienia,
- ocena fenotypowa - w skali 1 - 7



Zgorzel podstawy łodygi

- namnażanie grzyba – na patyczkach (odkażane poprzez w wysokiej temperaturze), na których rósł grzyb *F. graminearum* przez okres ok. 2 tygodni.
- zakażenia sztuczne – pomiędzy 2 i 3 międzywęźlem
- rośliny kontrolne były nakłuwane patyczkami czystymi.
- ocena fenotypowa porażenia łodyg oraz kolb prowadzona była w fazie dojrzałości pełnej.



Z1. Cel 1: Morfologia roślin – fuzarioza kolb

Oznaczanie zawartości DON



1g mąki +40 ml buforu



Wytrząsanie - 4 min



Filtrowanie 4ml roztworu

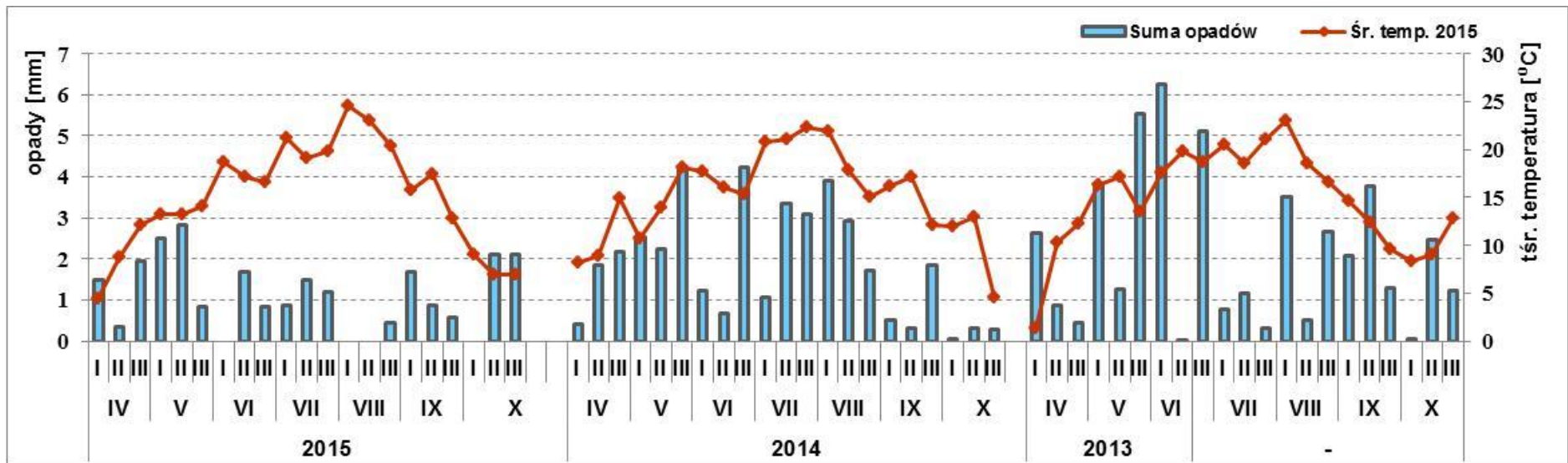


Odczyt zawartości DON



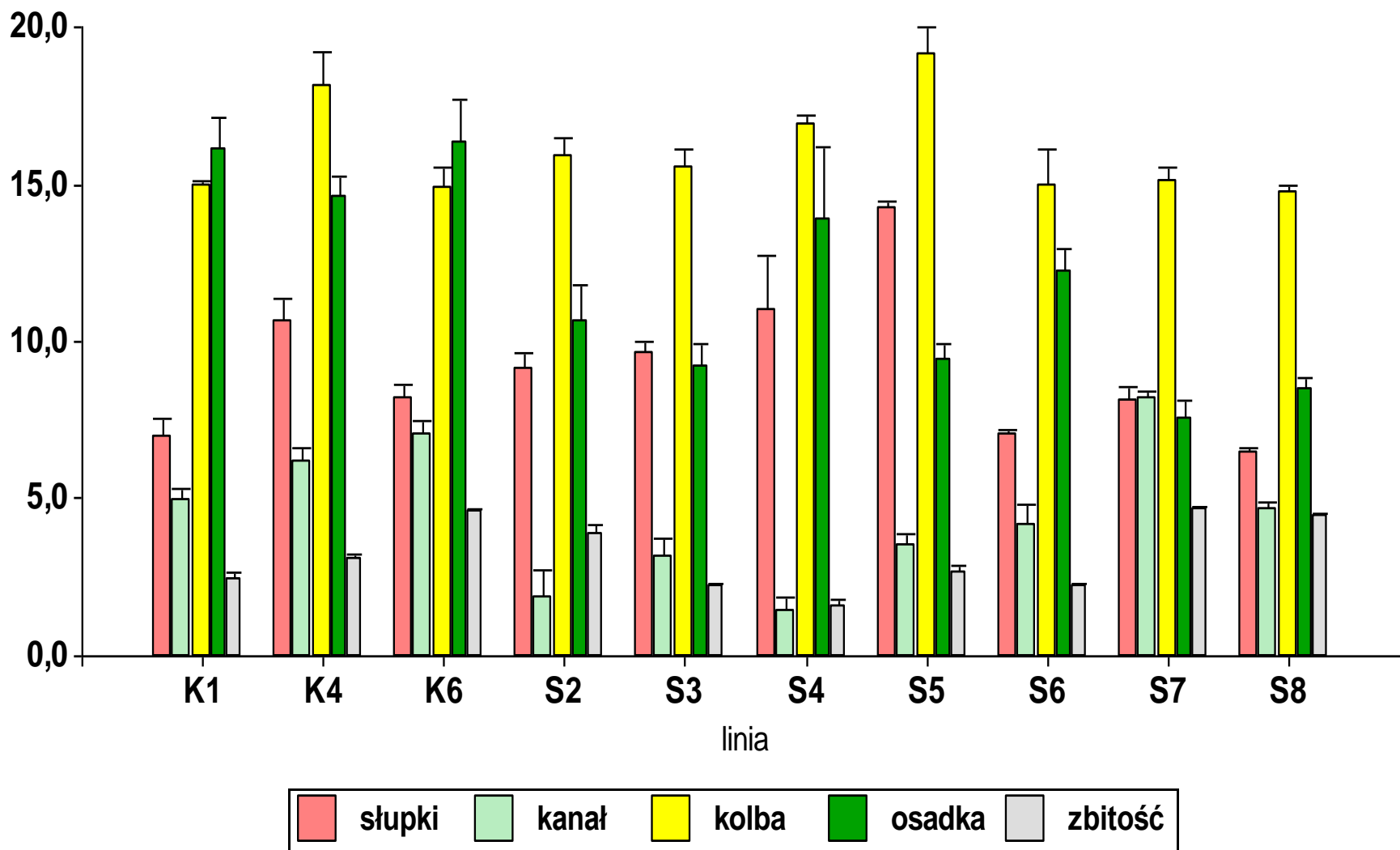
100μl przesącza na pasek testowy – 5 min

Rys. 1. Średnie dekadowe temperatury powietrza oraz suma opadów (kwiecień - październik) w roku 2015 na tle lat 2014 – 2013.



WYNIKI - Wnioski

➤ Zróżnicowanie dla cech morfologicznych pomiędzy genotypami było istotne



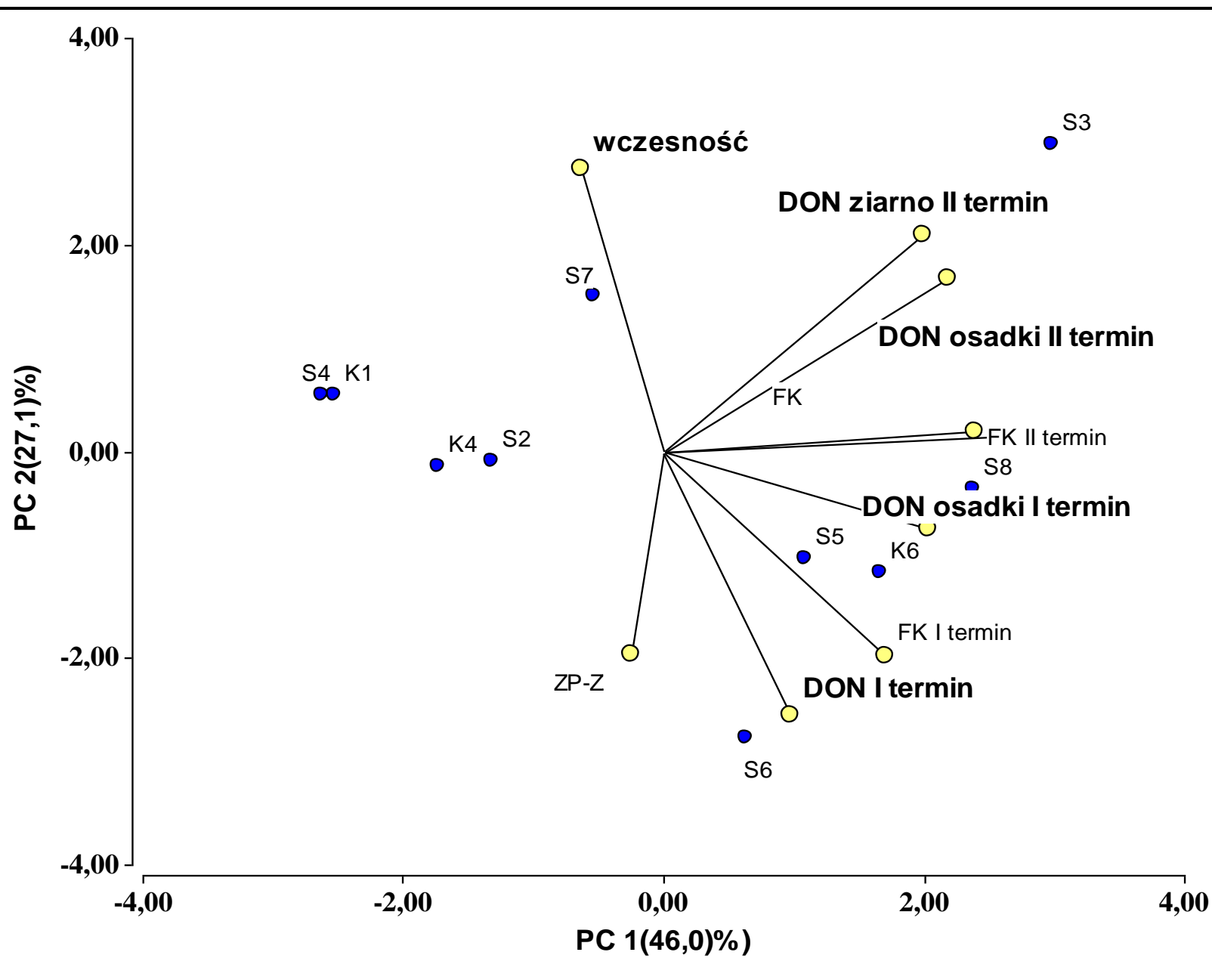
WYNIKI - Wnioski

- Stwierdzono istotny wpływ terminu oceny oraz genotypu na stopień porażenia roślin. Zarówno po zakażeniach sztucznych jak i przy infekcji naturalnej w miarę upływu czasu nasilenie choroby rosło, jednak przy infekcji naturalnej różnice były niewielkie.
- Stwierdzono istotny wpływ genotypu i terminu zbioru prób ziarna na ich poziom skażenia deoksyniwaleńmi na przestrzeni czasu.
- Stwierdzono dodatnią współzależność pomiędzy stopniem odporności roślin na porażenie przez *Fusarium graminearum* a poziomem skażenia prób ziarna pobranych w poszczególnych terminach.
- **Zawartość DON w osadkach była znacznie wyższa niż w ziarnie**

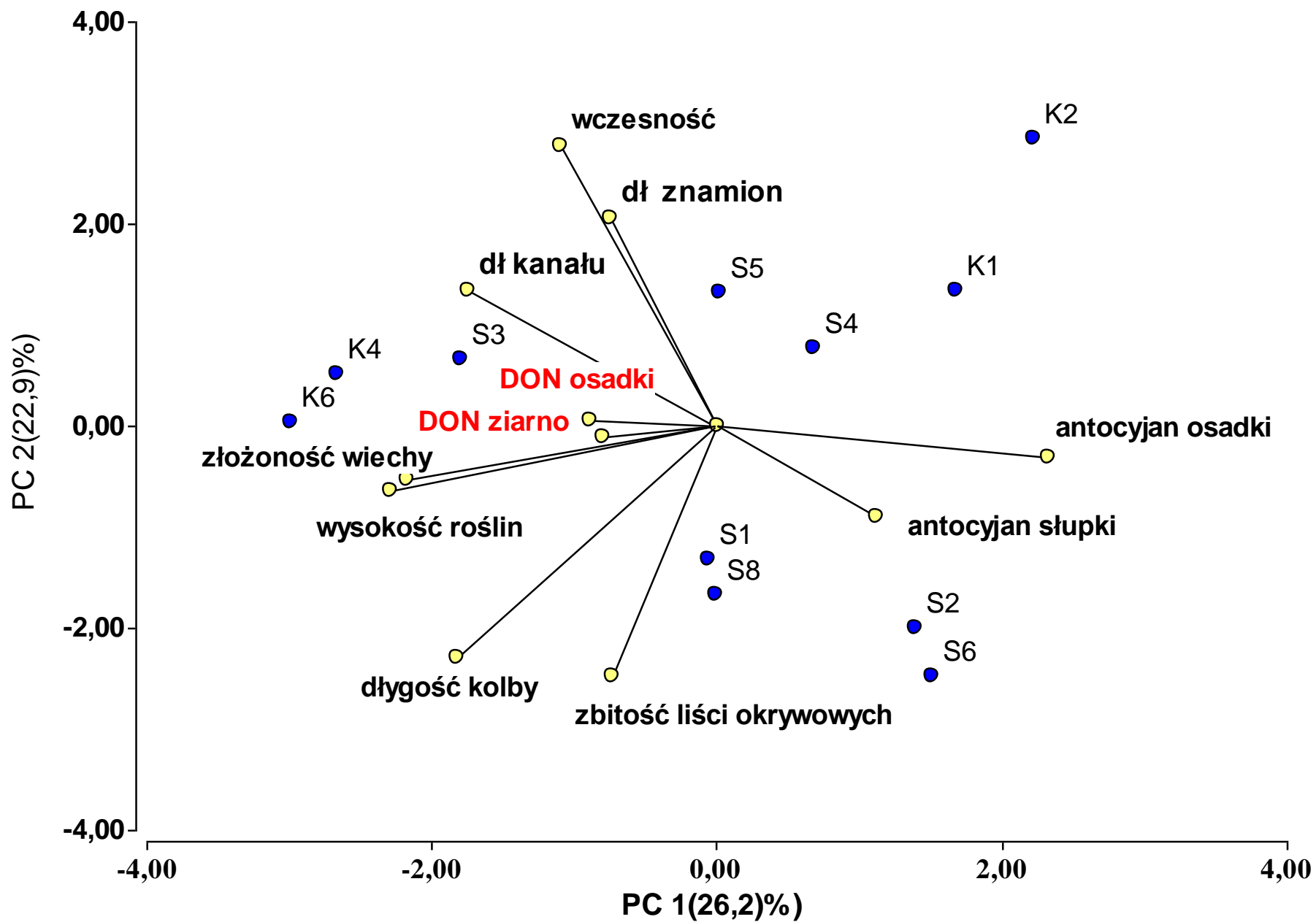
genotyp	Fuzarioza kolb – I termin			Fuzarioza kolb – II termin			Zgorzel podstawy łodygi			
	FK	DON (ppm)		FK	DON (ppm)		ZP	FK (naturalna)	DON (ppm)	
		ziarno	osadki		ziarno	osadki			ziarno	osadki
K1	2,1	0,4	5,1	2,7	1,6	5,4	4,7	1,8	<0,25	3,4
K4	2,4	1,7	8,9	3,2	0,5	12,0	6,7	2,9	<0,25	<0,25
K6	5,0	9,3	188,4	5,5	21,6	105,0	6,9	3,2	<0,25	<0,25
S2	3,7	3,7	21,8	3,5	3,9	140,8	5,6	1,5	<0,25	<0,25
S3	3,0	4,1	78,6	5,8	117,6	465,0	5,1	4,2	<0,25	<0,25
S4	2,3	0,4	5,3	2,8	1,9	20,3	6,9	1,8	<0,25	<0,25
S5	4,5	19,8	50,0	4,7	31,5	171,0	7,8	3,7	<0,25	<0,25
S6	3,8	58,6	58,0	4,3	19,1	109,6	7,7	3,0	<0,25	<0,25
S7	2,5	2,3	25,8	4,0	51,8	162,0	6,2	2,7	<0,25	<0,25
S8	3,7	18,4	222,5	4,7	42,0	254,5	4,3	3,9	<0,25	<0,25
średnia	3,2	10,9	60,9	3,9	29,2	132,6	6,4	2,7	<0,25	<0,25







- **Najlepszym wskaźnikiem stopnia odporności na fuzariozę kolb jest zawartość DON w osadkach a cechy fenotypowe mogą wspomagać proces selekcji**
- Zbitość liści okrywowych **dodatnio** wpływała na zawartość DON w osadkach (współzależności dodatnie, liście zbite, porażenie większe, $r=0,54$, $p=<0,01$)
- Długość znamion słupków **dodatnio** wpływała na zawartość DON w osadkach w fazie dojrzałości pełnej ($r=-0,1$, $p=<0,01$)
- Długość kolby statystycznie istotnie wpływała na zawartość DON w osadkach ($r=-0,42$, $p=<0,01$)
- Zawartość antocyjany w słupkach **ujemnie** wpływała na zawartość DON w ziarnie w fazie mleczno-woskowej oraz na stopień porażenia (oceny fenotypowe)
- Zawartość antocyjanu w osadkach **ujemnie** wpływała na objawy fuzariozy kolb w fazie dojrzałości pełnej i zawartość DON w ziarnie
- Zawartość antocyjanu w łodygach **ujemnie** wpływała na stopień odporności na zgorzel podstawy łodygi.



Temat badawczy 2

Określenie efektu heterozji dla stopnia odporności na fuzariozę kolb i zgorzel podstawy łodygi oraz wpływu form rodzicielskich na stopień odporności potomstwa

Lp.	miernik	wartość miernika	wartość miernika zrealizowana
1	Liczba testów fitopatologicznych polowych	2	2
2	Liczba badanych pokoleń F ₁ w każdym teście fitopatologicznym	28	28
3	Liczba opisanych cech fenotypowych	8	8
4	Liczba prób przebadanych na zawartość toksyn (DON)	112	112

Temat badawczy 2 – wpływ cech morfologicznych na odporność pokoleń F₁ - efekt heterozji

Material roślinny

- **28 pokoleń F₁ których formami rodzicielskimi były między innymi linie włączone do badań w ramach Tematu badawczego 1**

Testy fitopatologiczne

Zgodnie z metodyką opisaną dla tematu badawczego 1



Temat badawczy 1 – interakcja genotyp x patogen

Testy fitopatologiczne – *in vivo*

Fuzarioza kolb

- namnażanie grzyba – pożywka PDA
- przygotowanie zawiesiny zarodników - inokulum
- zakażenia sztuczne - inokulacja - 7 dni od kwitnienia,
- ocena fenotypowa - w skali 1 - 7



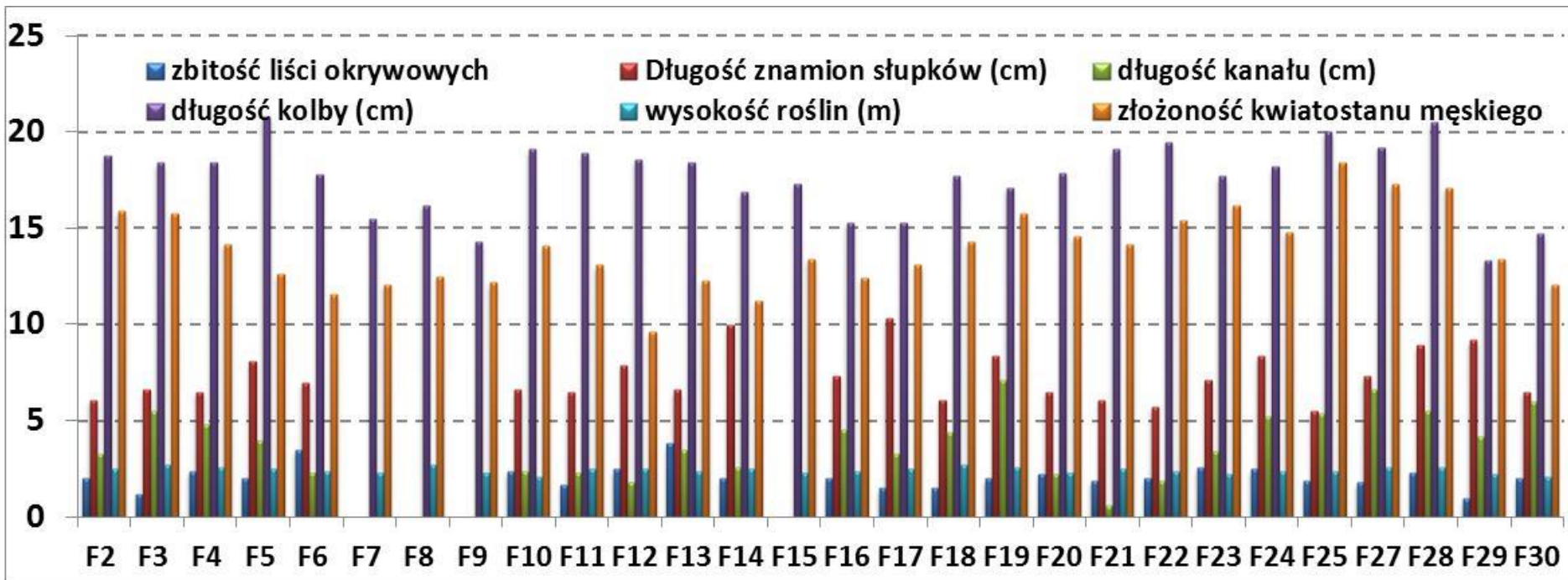
Zgorzel podstawy łodygi

- namnażanie grzyba – na patyczkach (odkażane poprzez w wysokiej temperaturze), na których rósł grzyb *F. graminearum* przez okres ok. 2 tygodni.
- zakażenia sztuczne – pomiędzy 2 i 3 międzywęźlem
- rośliny kontrolne były nakłuwane patyczkami czystymi.
- ocena fenotypowa porażenia łodyg oraz kolb prowadzona była w fazie dojrzałości pełnej.



WYNIKI - Wnioski

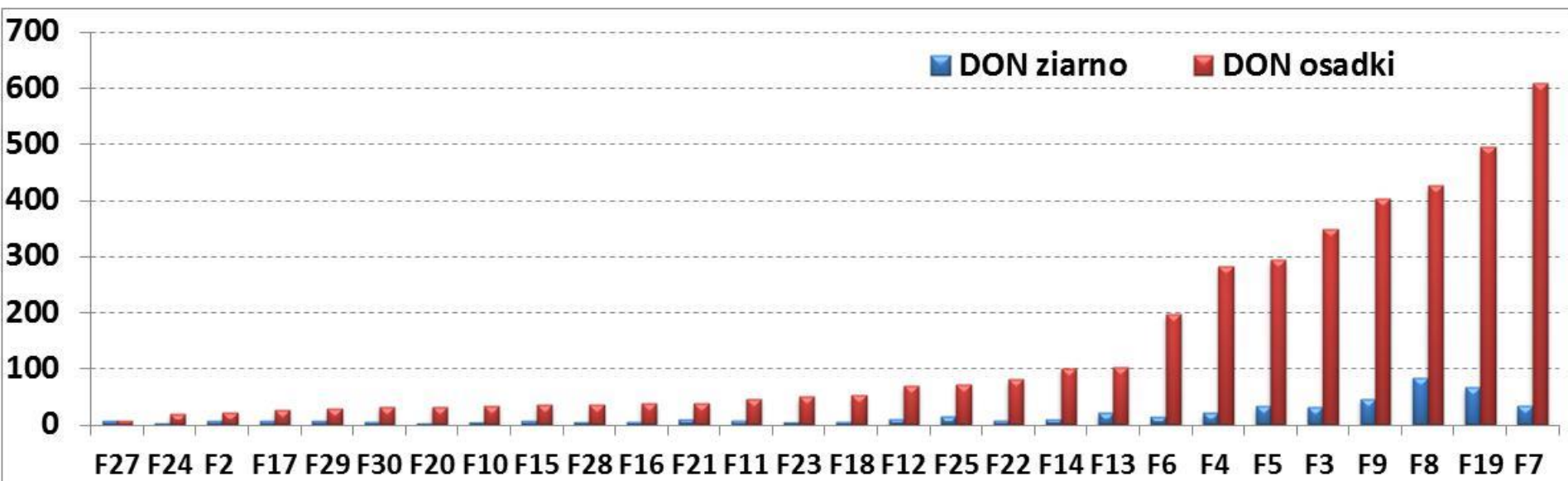
- Zróżnicowanie dla cech morfologicznych pomiędzy genotypami było istotne

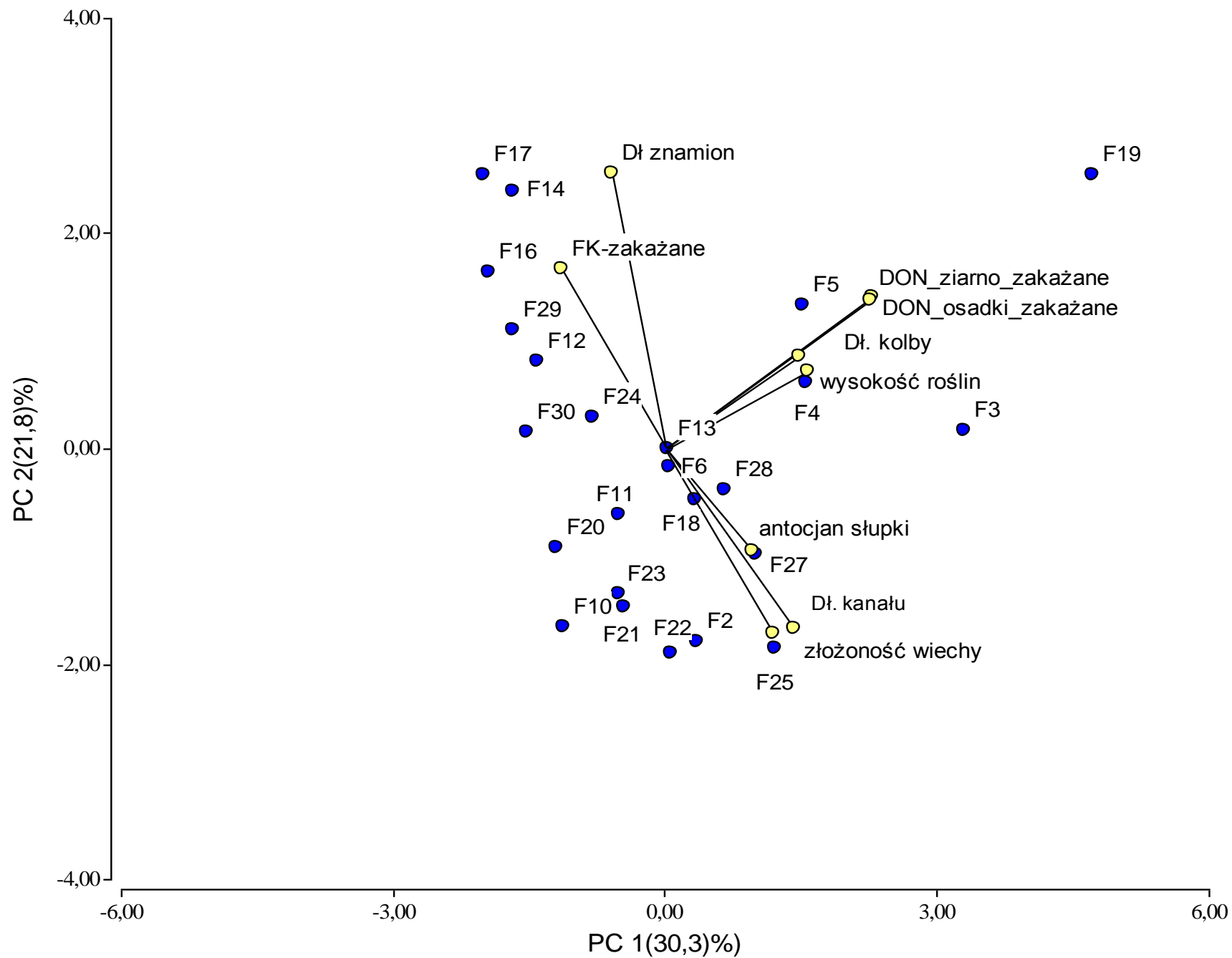


WYNIKI - Wnioski

Temat badawczy 2 - Interakcja: pokolenie F1 x patogen – fuzarioza kolb

- Stwierdzono statystycznie istotne różnice zarówno dla stopnia odporności na fuzariozę kolb przy infekcji naturalnej jak i po zakażeniach sztucznych, zawartość DON w ziarnie i osadkach w próbach pobranych z roślin zakażanych zawiesiną zarodników *F. graminearum* jak i na zgorzel podstawy łodygi
- **Zawartość DON w osadkach była znacznie wyższa niż w ziarnie**





WYNIKI - Wnioski

- Wykorzystanie w programach hodowlanych form o podwyższonej odporności i niskiej zdolności do kumulacji toksyn w ziarnie i osadkach pozwala uzyskać postęp hodowlany dla tych cech.
- Najlepszym wskaźnikiem stopnia odporności na fuzariozę kolb jest zawartość DON w osadkach a cechy fenotypowe mogą wspomagać proces selekcji
- W przypadku mieszańców długość kanału od końca osadki kolby do końca liści okrywowych istotnie wpływała na rozwój choroby i wzrost zawartości DON w ziarnie i osadkach, czego nie stwierdzono dla linii wsobnych (poziom wsobności F_9)
- Zawartość antocyjanu w łodygach w sposób istotny wpływa na stopień odporności na zgorzel podstawy łodygi

Temat badawczy 3

- **Celem tematów jest porównanie efektywności poszukiwania źródeł odporności na FK i ZP metodą rodowodową tylko na podstawie ocen fenotypowych**
- **z efektywnością poszukiwania źródeł odporności na FK i ZP w oparciu o oceny fenotypowe stopnia odporności i o cechy morfologiczne roślin**

Lp.	miernik	wartość miernika	wartość miernika zrealizowana
1	Liczba populacji S_0 w badaniach nad fuzariozą kolb	20	20
2	Liczba linii pokoleń S_1 , S_2 i S_3 w badaniach nad fuzariozą kolb	ok. 1500	1559
3	Liczba populacji S_0 w badaniach nad zgorzelą podstawy łodygi	20	20
4	Liczba roślin badanych w obrębie populacji S_0	20	20
5	Liczba roślin badanych w obrębie linii pokoleń S_1 , S_2 i S_3	średnio 2-3	2-3

Materiały i metody

Do badań włączono pokolenia S_1 , S_2 i S_3 oraz populacje pokolenia S_0 . Pokolenia S_0 to populacje mieszańcowe pokoleń F_2 - rozmnożonych pokoleń F_1 uzyskanych na bazie krzyżowań losowo wybranych genotypów, których odporność na FK nie była wcześniej badana.

Linie S_1 i S_2 to potomstwo zapylanych wsobnie roślin, których kolby zakażano sztucznie grzybem *F. graminearum*, a następnie na podstawie ocen fenotypowych wytypowano do dalszych badań jako potencjalne źródła odporności w latach poprzednich. Linie pokolenia S_1 uzyskano z pokoleń S_0 .

Linie pokoleń S_2 to potencjalne źródła odporności uzyskane na bazie zapylanych wsobnie roślin w obrębie linii pokoleń S_1 .



Temat 3 – efektywność

- Pkolenie S3 - badano **274** linie należące do 25 populacji. Oceniono stopień odporności **458 roślin** (które były zapylane wsobnie a następnie zakażane *F. graminearum*) a do dalszych badań wytypowano **296 roślin** (efektywność selekcji była różna w zależności od populacji).
- Pokolenie S2 badano **835 linii** należących do 93 populacji. Łącznie oceniono stopień odporności **1789 roślin** (które były zapylane wsobnie a następnie zakażane *F. graminearum*) a do dalszych badań wstępnie wytypowano **952 roślin** (podobnie jak dla S3 efektywność selekcji była różna w zależności od populacji).
- Pokolenie S1 - badano **450 linii** należących do 38 populacji. Łącznie oceniono stopień odporności **980** roślin (które były zapylane wsobnie a następnie zakażane *F. graminearum*) a do dalszych badań wstępnie wytypowano **467 roślin** (podobnie jak dla S2 efektywność selekcji była różna w zależności od populacji).
- Uzyskano **100 pokoleń F1**, które po rozmnożeniu będą włączone do badań jako populacje S0

WYNIKI - Wnioski

- Wstępnie można stwierdzić, że uwzględniając tylko oceny fenotypowe stopnia porażenia kolb, metoda rodowodowa może pozwolić na uzyskanie postępu biologicznego dla stopnia odporności na fuzariozę kolb, bór form rodzicielskich jest to proces długotrwały, musi być prowadzony po zakażeniach sztucznych *Fusarium graminearum* i na przestrzeni wielu lat.
- Efektywność jest różna w zależności od populacji – i dlatego najważniejszym etapem jest właściwy wybór form rodzicielskich

Temat badawczy 4

- **Pozyskanie pokoleń F_2 do badań nad efektywnością poszukiwania źródeł odporności kukurydzy na fuzariozę kolb lub zgorzel podstawy łodygi w oparciu o cechy fenotypowe roślin i oceny porażenia kolb lub łodyg**

Lp.	miernik	wartość miernika	wartość miernika zrealizowana
1	Liczba rozmnażanych pokoleń F_1	ok. 150*	150

DZIĘKUJĘ za uwagę

