

TOMASZ GÓRAL**EDWARD ARSENIUK**

Zakład Fitopatologii

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Radzików

Reakcja linii somaklonalnych pszenżyta ozimego na porażenie grzybami z rodzaju *Fusarium* Część I. Fuzarioza kłosów powodowana przez *F. culmorum* W. G. Smith (Sacc.)

Reaction of somaclonal lines of winter triticale to *Fusarium* infection Part I. *Fusarium* head blight caused by *F. culmorum* W. G. Smith (Sacc.)

Badano odporność na fuzariozę kłosa linii somaklonalnych (pokolenia R₁–R₃) pszenżyta ozimego uzyskanych z 20 genotypów wyjściowych. Kłosa inokulowano izolatami *Fusarium culmorum*. Stwierdzono istotne zróżnicowanie nasilenia fuzariozy kłosa pomiędzy genotypami wyjściowymi. Zaobserwowano istotne różnice w reakcji pomiędzy liniami somaklonalnymi uzyskanymi z różnych genotypów wyjściowych, co było rezultatem zróżnicowania tych genotypów, oraz liniami uzyskanymi z różnych kalusów tego samego genotypu wyjściowego. Obserwowano niewielkie różnice pomiędzy średnim nasileniem fuzariozy kłosa dla kolejnych pokoleń linii somaklonalnych, co wskazywało na stabilność reakcji tych linii. Tym niemniej, dla kilku linii somaklonalnych średnie nasilenie choroby malało lub rosło w kolejnych pokoleniach zbliżając się do reakcji genotypu wyjściowego. Uzyskane wyniki wskazują, że możliwa jest trwała poprawa odporności genotypu dzięki wykorzystaniu zmienności somaklonalnej.

Słowa kluczowe: *Fusarium culmorum*, fuzarioza kłosa, *in vitro*, linia somaklonalna, odporność, pszenżyto

Resistance to *Fusarium* head blight of somaclonal lines (generations R₁–R₃) generated from 20 parental genotypes was studied. Heads were artificially inoculated with *Fusarium culmorum* isolates. Significant variation among parental genotypes in the resistance and tolerance to *Fusarium* head blight was found. Somaclonal lines generated from different parental genotypes (of different resistance) and the lines generated from different calli of the same parental genotype varied significantly in the level of resistance. Mean levels of resistance and tolerance for consecutive generations of lines did not differ significantly, which proved the stability of reaction of the lines to head blight. The increase or decrease of resistance to the level determined for parental genotype was observed only with some lines. The results presented in the paper show that the use of somaclonal variation can result in the stable improvement of the genotype resistance.

Key words: *Fusarium culmorum*, head blight, *in vitro*, resistance, somaclonal line, triticale

WSTĘP

Grzyby z rodzaju *Fusarium* porażają zboża w różnych stadiach rozwoju, powodując zgorzel siewek, zgorzel podstawy źdźbła oraz fuzariozę kłosów (Parry i in., 1995). Efektem fuzariozy kłosów może być niedorozwój ziarniaków, pomarszczenie i obniżenie masy tysiąca ziarniaków, zmniejszenie zdolności kiełkowania, zasiedlenie ziarniaków przez *Fusarium* spp. oraz zanieczyszczenie mikotoksynami (Perkowski, 1999).

Wszystkie gatunki zbóż są porażane przez *Fusarium*, jednakże różnią się one średnią reakcją na fuzariozę kłosa i poziomem akumulacji toksyn. Pszenica charakteryzuje się największą podatnością na fuzariozę kłosa oraz akumuluje największe ilości deoksyniwalenolu (DON) w ziarnie (Góral i in., 1995; Miedaner i in., 2001). Pszenżyto i żyto są średnio odporniejsze od pszenicy, jednakże obserwuje się szeroką zmienność odporności i poziomu akumulacji toksyn u tych gatunków. Miedaner i wsp. (2001) stwierdzili, że żyto było porażane przez fuzariozę w podobnym stopniu jak pszenica, jednakże akumulowało dwukrotnie mniej DON-u w ziarnie. Pszenżyto było porażane najslabiej i akumulowało podobne ilości DON-u w ziarnie jak żyto. Wśród polskich genotypów tych zbóż Góral i wsp. (1995) zaobserwowali, że pszenica była najbardziej podatna na fuzariozę kłosów i akumulację DON-u. Genotypy pszenżyta i żyta miały podobną odporność na fuzariozę kłosa, jednakże żyto akumulowało mniej toksyn fuzaryjnych.

Hodowla odmian zbóż odpornych na porażenie przez *Fusarium* spp. może być efektywnym środkiem ochrony przed spadkami plonu powodowanymi przez choroby fuzaryjne (Miedaner, 1997; Góral i in., 2002 a). Uprawa odmian odpornych może zabezpieczyć również przed zanieczyszczeniem ziarna mikotoksynami, które obserwuje się już przy niewielkim porażeniu roślin, praktycznie niezauważalnym dla producenta zbóż, a występującym dość powszechnie (Perkowski, 1999).

Hodowla odpornościowa roślin wymaga istnienia odpowiednio szerokiej zmienności genetycznej. Dla jej poszerzania stosowano dzikie formy, czasem niespokrewnione, oraz techniki mutacyjne. W ostatnich latach pojawiło się nowe źródło możliwej do wykorzystania zmienności tj. zmienność indukowana w komórkowych lub tkankowych kulturach, określona jako somaklonalna (Liang i McHughen, 1987; Semal i in., 1988). Zmienność ta jest w większości przypadków dziedziczna i obejmuje również odporność na choroby (Larkin i in., 1984; Breiman i in., 1987 b; Van den Bulk, 1991; Arseniuk, 1994). Daje to możliwość wykorzystania tego zjawiska w hodowli odpornościowej. Przy czym można poszukiwać form odpornych wśród roślin zregenerowanych lub prowadzić selekcję genotypów *in vitro* z zastosowaniem czynnika selekcyjnego, takiego jak inokulum patogena, mikotoksyny lub filtry kultury patogena (Semal i in., 1988; Ahmed i in., 1991; Van den Bulk, 1991; Bruins i in., 1993; Arseniuk i in., 1998; Góral i in., 2002 b). Co do istnienia zmienności somaklonalnej powstającej bez udziału czynnika selekcyjnego istnieją rozbieżne opinie. Chowdhury i Vasil (1993) nie stwierdzili istotnego wpływu kultury *in vitro* na zmienność mitochondrialnego DNA trzciny cukrowej. Jednakże Chowdhury i wsp. (1994) badając mtDNA czterech odmian pszenicy oraz regenerantów stwierdzili istnienie takiej zmienności. Wystąpiła ona tylko u regenerantów uzyskanych z dwóch odmian.

Brettell i wsp. (1986) badali somaklonalną zmienność regenerantów pszenżyta uzyskanych metodą niedojrzałych zarodków. Autorzy stwierdzili stabilność genów rRNA (*loci Nor*), z jednym wyjątkiem: jeden z somaklonów wykazał odziedziczoną zmienność zarówno na poziomie DNA, jak i chromosomowym. Podobnie Breiman i wsp. (1987) analizując linie somaklonalne trzech odmian pszenicy znaleźli zmienność indukowaną przez kulturę *in vitro*, w *loci Nor* u regenerantów uzyskanych z jednej z badanych odmian. Wcześniejsze badania Laptiana i wsp. (1984) pokazały, że kultury *in vitro* prowadzą do powstawania znacznej liczby zmian strukturalnych w kariotypie regenerantów uzyskanych mieszańców pszenica × żyto.

Celem pracy było zbadanie zakresu zmienności reakcji linii somaklonalnych pszenżyta ozimego na fuzariozę kłosa powodowaną przez *Fusarium culmorum*. Reakcja linii somaklonalnych porównywana była z reakcją form konwencjonalnych pszenżyta, z których linie te zostały uzyskane. Pozwoliło to na stwierdzenie czy w badanym materiale istnieje zmienność powstająca na skutek regeneracji genotypów pszenżyta w kulturach *in vitro*, określana jako zmienność somaklonalna.

MATERIAŁ I METODY

Izolaty *Fusarium* spp.

Do przeprowadzenia badań nad odpornością pszenżyta ozimego na fuzariozy wybrany został gatunek *F. culmorum*. Jest to gatunek najczęściej występujący w Polsce na porażonych kłosach zbóż oraz powodujący zgorzele siewek i podstawy źdźbła pszenicy. *F. culmorum* jest gatunkiem silnie patogenicznym, wytwarzającym mikotoksyny z grupy trichotecenów (deoksyniwalenol i pochodne oraz niwalenol).

Izolaty *F. culmorum* uzyskane zostały z porażonego ziarna pszenżyta i pszenicy. Izolaty te przechowywane były w temperaturze 5°C na skosach agarowych z liśćmi goździka (pożywka CLA). Do doświadczeń wybrane zostały izolaty o wysokiej patogeniczności przetestowanej na siewkach pszenżyta, wytwarzające deoksyniwalenol (Góral i in., 2002 b).

Materiał roślinny

W doświadczeniach testowana był odporność linii somaklonalnych oraz genotypów wyjściowych pszenżyta ozimego (Almo, Bolero, Dagro, Grado, Lasko, Malno, Moniko, Presto, Ugo, CHD = CHD 470/85, GRH 32-1, LAD-285, MAH 15668-1 = MAH 2, MAH 15833-1/4 = MAH 3, MAH 6353-108 = MAH 1, T/8, T/9, T/28, T/47, TSW = TSW2.742.85). Linie somaklonalne zostały uzyskane *in vitro* techniką niedojrzałych zarodków (Arseniuk i in., 1998). Pochodziły one zarówno z kalusa wytworzonego z jednego zarodka, jak i z kalusów z różnych zarodków. W ramach linii uzyskanych z danego genotypu linie z tego samego kalusa określone zostały jako grupa linii.

Doświadczenia polowe

Linie somaklonalne i genotypy wyjściowe wysiane zostały w doświadczeniu polowym w dwóch powtórzeniach w dwóch kolejnych latach. Każde powtórzenie składało się z dwóch pasów — pasa obiektów inokulowanych oraz pasa obiektów chronionych fungicydami, stanowiącego kontrolę. W doświadczeniach wysiano ziarno linii pokoleń R₁,

R₂ i R₃. Wszystkie obiekty (kontrola i inokulowane) chronione były do fazy kłoszenia fungicydem zwalczającym patogeny liści (Tilt Plus 400 EC). Po wykłoszeniu tylko obiekty kontrolne chronione były fungicydem zwalczającym fuzariozę kłosa (Tilt CB 37,5 WP).

Materiał infekcyjny, który stanowiły zarodniki konidialne *Fusarium culmorum*, produkowano na ziarnie pszenżyta. Pszenżyto inokulowane było w stadium pełni kwitnienia przez opryskanie kłosów zawiesiną zarodników o gęstości ok. 2×10^6 zar./ml. Inokulum zostało sporządzone z mieszaniny kilku izolatów. Inokulacja przeprowadzana była późnym wieczorem w celu zapewnienia utrzymywania się wysokiej wilgotności w łanie.

Nasilenie fuzariozy kłosów oceniane było od momentu ukazania się pierwszych objawów choroby tj. bielenia pojedynczych kłosek. Przeprowadzone zostały cztery obserwacje w odstępach 7–10 dni. Określany był udział kłosów z objawami porażenia w ogólnej liczbie kłosów na poletku (FHBI) oraz liczba porażonych kłosek w kłosie (FHBS) (brane pod uwagę były tylko kłosa z objawami choroby). Mierniki te posłużyły do wyliczenia indeksu fuzariozy kłosów (DI) według formuły: $DI(\%) = FHBI \times FHBS$.

Z każdego poletka zbierano po 30 losowo wybranych kłosów. Następnie oznaczana była względna redukcja składników struktury plonu w porównaniu z kontrolą: masa ziarna z kłosa (MZK), liczba ziarniaków w kłosie (LZK), masa tysiąca ziarniaków (MTZ), masa objętościowa ziarna. Ziarniaki wykładane były na pożywkę selektywną SFA (Burgess i in., 1994) w celu określenia stopnia porażenia ziarna przez *F. culmorum*.

Analiza wyników

Zastosowano analizę wariancji jedynie dla danych dotyczących genotypów wyjściowych. Dane dla linii analizowano konstruując przedziały ufności i tolerancji. Przedziały te określano dla średnich wartości wszystkich zastosowanych mierników dla linii wytworzonych z danego genotypu wyjściowego.

Przedziały obliczono jak następuje: przedział ufności $P(Y_{\text{sr}} - t_{0,05;v}S_Y < \mu < Y_{\text{sr}} + t_{0,05;v}S_Y) = 0,95$; przedział tolerancji $Y_{\text{sr}} \pm S_Y$, gdzie Y_{sr} — średnia linii, S_Y — odchylenie standardowe, t — wartość testu t-Studenta.

WYNIKI

Stwierdzono istotne zróżnicowanie reakcji na fuzariozę kłosa pomiędzy genotypami wyjściowymi w następujących zakresach: indeks fuzariozy kłosa od 3,5% do 26,0%; porażenie ziarna od 36,7% do 80,0%; redukcja masy ziarna z kłosa od 21,1% do 69,0%; redukcja masy 1000 ziarniaków od 0 do 35,0%; redukcja masy objętościowej ziarna od 1,5% do 15,0%; redukcja liczby ziarniaków w kłosie od 21,6% do 58,1% (rys. 1–6).

Zaobserwowano istotne różnice w reakcji pomiędzy:

- liniami somaklonalnymi uzyskanymi z różnych genotypów wyjściowych (co było rezultatem zróżnicowania genotypów wyjściowych),
- liniami uzyskanymi z różnych kalusów tego samego genotypu wyjściowego (grupami linii), np. MAH 3 10/1-7 i 6/15, Presto 3/1 i 14/2-4, Malno 2/1-4 i 8/1-3, Moniko 1/1-4 i 8/1-3,
- pomiędzy liniami uzyskanymi z jednego kalusa, np. MAH 1 14/1 i 14/3, T/28 1/4 i 1/6.

Należy dodać, że zróżnicowanie pomiędzy liniami uzyskanymi z różnych kalusów tego samego genotypu wyjściowego występowało znacznie częściej niż pomiędzy liniami uzyskanymi z jednego kalusa.

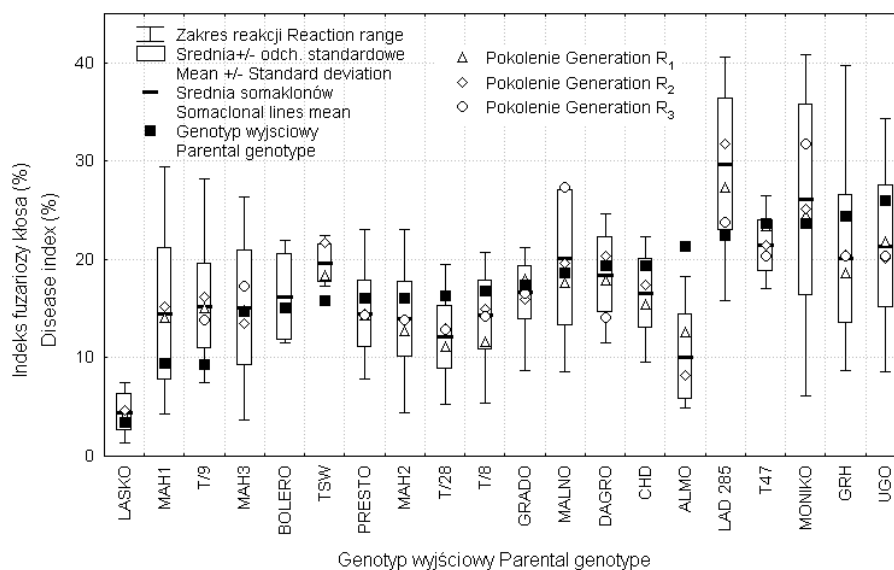
Termin kwitnienia większości linii somaklonalnych był średnio wcześniejszy o jeden dzień od terminu kwitnienia genotypów wyjściowych. Największą różnicę obserwowano dla linii uzyskanych z genotypu T/28, które były średnio o 2,8 dnia wcześniejsze od formy rodzicielskiej. Najmniejsze różnice znaleziono dla linii uzyskanych z genotypów Presto, Dagro, LAD-285 i Ugo. Najwyższe wartości współczynników zmienności terminu kwitnienia zanotowano dla linii uzyskanych z genotypów Dagro (12,1%), Almo (11,1%) i T/28 (10,4%).

Wśród linii somaklonalnych wytworzonych z genotypów wyjściowych Almo, Malno, Moniko, Presto, Ugo, GRH 32-1, MAH 2, MAH 3, T/8, T/28 znaleziono formy o istotnie obniżonej podatności na fuzariozę kłosa, mimo braku istotnych różnic pomiędzy reakcją genotypu wyjściowego i średnią reakcją większości linii (rys. 1).

Tabela 1

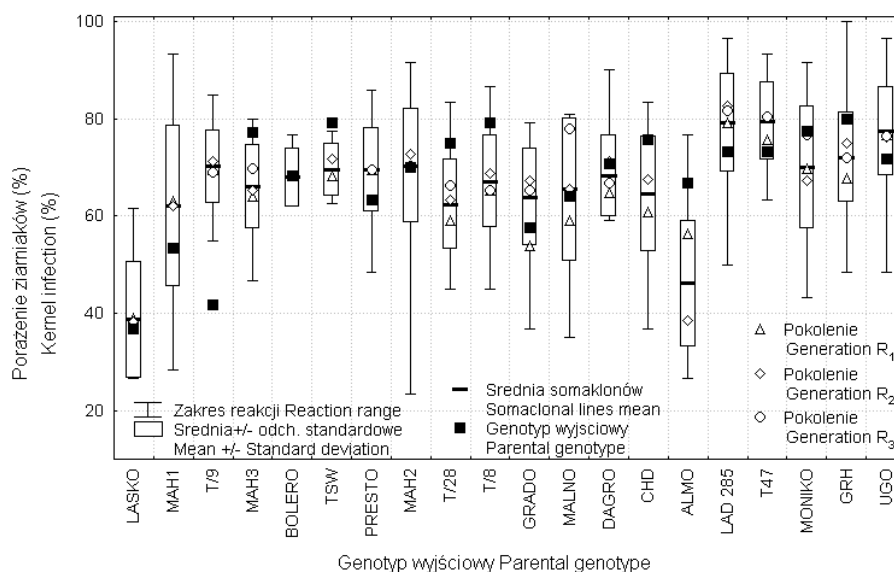
Porównanie reakcji linii somaklonalnych pszenżyta ozimego w trzech kolejnych pokoleniach na porażenie kłosów przez *F. culmorum*
Comparison of reaction to head infection with *F. culmorum* of somaclonal lines of winter triticale in three consecutive generations

	Genotypy wyjściowe Parental genotypes	Pokolenie Generation			Odchylenie standardowe Standard deviation
		R ₁	R ₂	R ₃	
Termin kwitnienia (dni od 1.06) Flowering date (days from 06/1)	13,3	12,3	12,8	12,7	1,2
FHBS (%)	25,0	25,8	26,0	25,3	8,2
% genotypu wyjściowego % of parental genotype	—	103,0	105,3	100,7	32,4
FHBI (%)	57,3	55,3	58,0	60,4	10,4
% genotypu wyjściowego % of parental genotype	-	95,5	100,8	102,3	19,3
Indeks fuzariozy kłosa Disease index (%)	17,5	17,4	17,8	17,2	7,2
% genotypu wyjściowego % of parental genotype	—	100,0	104,5	98,4	42,7
Porażenie ziarna Kernel infection (%)	67,7	67,3	70,0	71,3	12,5
% genotypu wyjściowego % of parental genotype	—	102,4	105,6	107,6	28,3
Redukcja MZK Yield reduction (%)	52,5	45,1	47,0	49,3	12,8
Redukcja MTZ TKW reduction (%)	21,8	19,8	19,8	20,0	8,1
Redukcja masy obj. Specific weight reduction (%)	10,5	6,0	5,7	5,7	6,5
Redukcja LZK Kernel no. reduction (%)	40,7	32,5	35,1	37,6	12,7



Rys. 1. Reakcja linii somaklonalnych (pokolenia R₁ – R₃) pszenżyta ozimego na inokulację kłosów izolatami *Fusarium culmorum*

Fig. 1. Reaction of somaclonal lines (generations R₁ – R₃) of winter triticale to head inoculation with isolates of *Fusarium culmorum*



Rys. 2. Porażenie ziarniaków linii somaklonalnych (pokolenia R₁–R₃) pszenżyta ozimego przez *Fusarium culmorum*

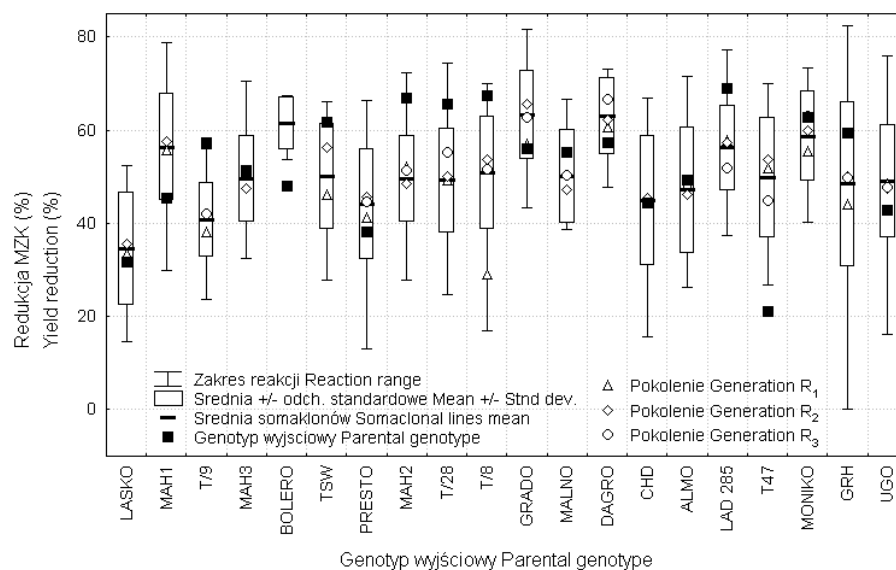
Fig. 2. *Fusarium culmorum* infection of kernels in somaclonal lines (generations R₁–R₃) of winter triticale

Linie uzyskane z Bolero, Grado, Dagro, Lasko, CHD 470/85, T47 wykazały reakcję zbliżoną do reakcji genotypów wyjściowych. Natomiast linie uzyskane z LAD 285, MAH 3, MAH 1, T/9, TSW wykazały podatność istotnie wyższą w porównaniu z genotypem wyjściowym.

Współczynnik zmienności indeksu fuzariozy kłosa (DI) mieścił się w zakresie od 44,0% (MAH 1) do 9,5% (TSW). Najniższa względna wartość reakcji w odniesieniu do genotypu wyjściowego wyniosła dla 23,2% (Almo), natomiast najwyższa 310,7% (MAH 1). Dla stopnia porażenia ziarna współczynnik zmienności reakcji linii mieścił się w zakresie 29,7% (Lasko) do 7,3% (TSW) i był około dwukrotnie niższy niż dla indeksu fuzariozy kłosa (rys. 2). Najniższa względna wartość porażenia w odniesieniu do genotypu wyjściowego została stwierdzona dla linii MAH 2, a najwyższa dla T/9 i wyniosła odpowiednio 33,3% i 204,0%.

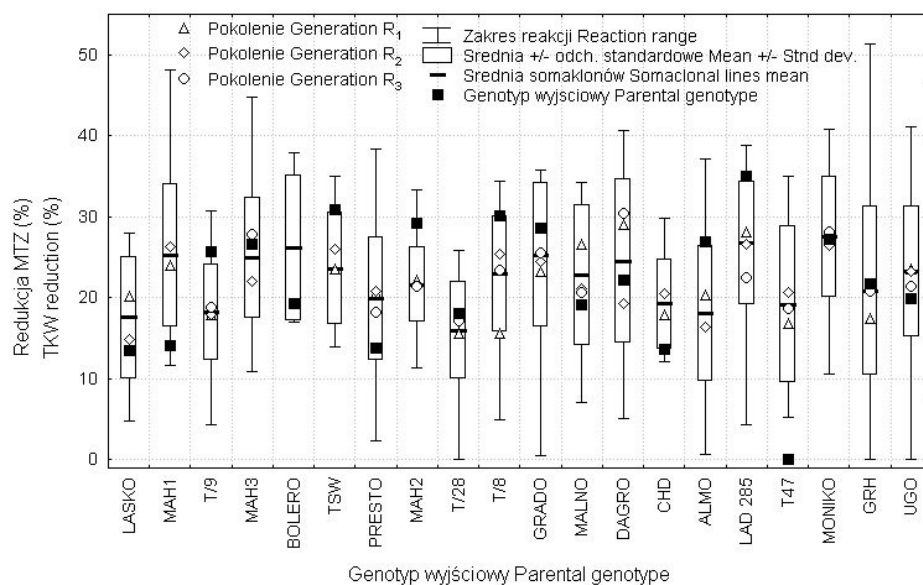
Istotnie niższą średnią redukcję składników struktury plonu obserwowano u linii somaklonalnych uzyskanych z 7 genotypów — Almo (MTZ, masa objętościowa), LAD 285 (LZK), MAH 2, T/9, TSW, T/8 (MZK, LZK), T/28 (rys. 3–6). Wśród linii uzyskanych z 4 genotypów znaleziono grupy linii o istotnie niższej redukcji składników struktury plonu — Malno (LZK), Presto, Ugo (LZK), GRH 32-1. Pozostałe linie charakteryzowały się tolerancją zbliżoną do tolerancji genotypów wyjściowych lub tolerancją istotnie niższą — Bolero (MZK, LZK), Grado (LZK), MAH 1 (MZK, MTZ), T/47. Współczynniki zmienności dla redukcji składników struktury plonu były wyższe od współczynników dla mierników nasilenia fuzariozy kłosa. Najwyższe wartości zanotowano dla redukcji masy objętościowej. Obserwowano tu zarówno brak redukcji jak i redukcję masy dochodzącą do 60%. Minimalne wartości redukcji składników struktury plonu były dużo niższe od tych wartości dla genotypów wyjściowych (rys. 3–6). Wyjątek stanowiły: MAH 1, Bolero, T/47 dla redukcji MZK; MAH 1, Presto, CHD 470/85, T/47 dla RMTZ; Bolero, Grado, T/47 dla redukcji LZK oraz Lasko, Bolero, T/47 dla redukcji masy objętościowej. Wśród linii uzyskanych z genotypów wyjściowych T/28, Almo, GRH 32-1, Ugo, CHD 470/85, Lasko, MAH 1, T/9, MAH 2 znaleziono formy charakteryzujące się brakiem redukcji przynajmniej jednego ze składników struktury plonu (z wyjątkiem MZK). Wskazuje to, że możliwe jest znalezienie linii o zwiększonej, w porównaniu z genotypem wyjściowym, tolerancji na porażenie fuzariozą kłosa.

Reakcja genotypu wyjściowego nie wychodziła w większości przypadków poza zakres zmienności linii somaklonalnych uzyskanych z tego genotypu (rys. 1–6). Obserwowano niewielkie różnice pomiędzy średnimi wartościami reakcji na fuzariozę kłosa i redukcji składników struktury plonu dla kolejnych pokoleń (R_1 – R_3) linii (tab. 1). Wskazywałoby to na stabilność reakcji linii. Tym niemniej u części linii obserwowano tendencję do zmiany (wzrostu lub spadku) podatności w kolejnych pokoleniach w kierunku podatności genotypu wyjściowego (MAH 2, MAH 3, T/9, T/28).



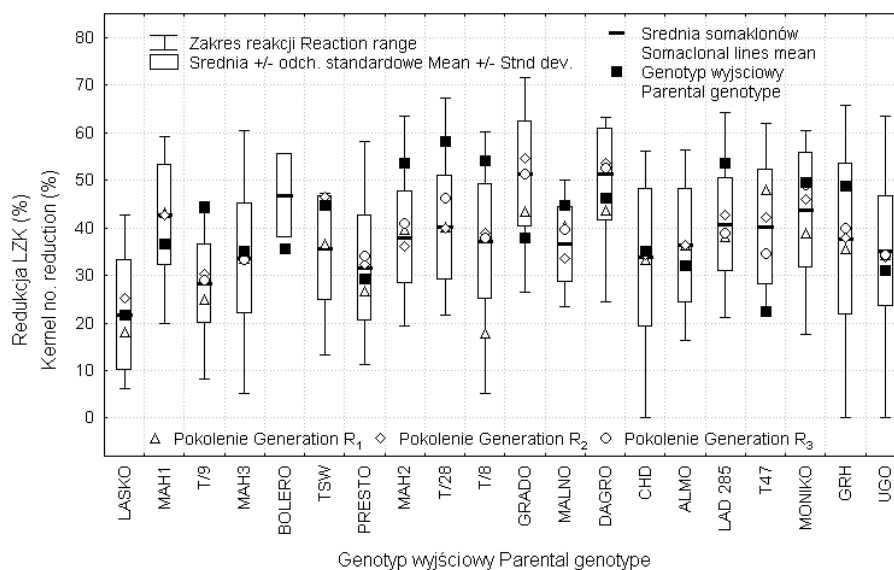
Rys. 3. Redukcja masy ziarniaków z kłosa linii somaklonalnych (pokolenia R₁–R₃) pszenżyta ozimego porażonych przez *Fusarium culmorum*

Fig. 3. Reduction of grain yield of somaclonal lines (generations R₁–R₃) of winter triticale infected with *Fusarium culmorum*

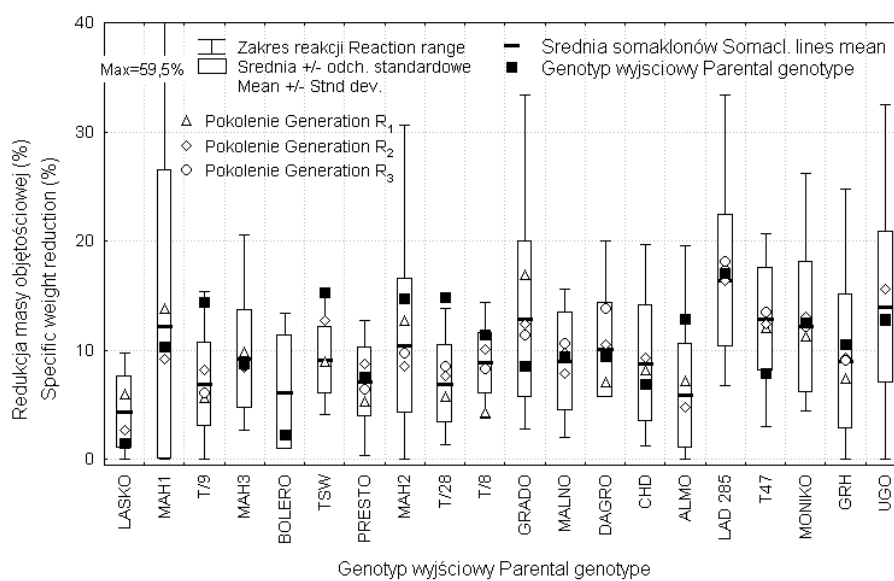


Rys. 4. Redukcja masy tysiąca ziarniaków linii somaklonalnych (pokolenia R₁–R₃) pszenżyta ozimego porażonych przez *Fusarium culmorum*

Fig. 4. Reduction of thousand kernels weight in somaclonal lines (generations R₁–R₃) of winter triticale infected with *Fusarium culmorum*



Rys. 5. Redukcja liczby ziarniaków w kłosie linii somaklonalnych (pokolenia R₁ – R₃) pszenżyta ozimego porażonych przez *Fusarium culmorum*
Fig. 5. Reduction of a number of kernels per head in somaclonal lines (generations R₁ – R₃) of winter triticale infected with *Fusarium culmorum*



Rys. 6. Redukcja masy objętościowej ziarniaka linii somaklonalnych (pokolenia R₁–R₃) pszenżyta ozimego porażonych przez *Fusarium culmorum*
Fig. 6. Reduction of specific kernel weight in somaclonal lines (generations R₁–R₃) of winter triticale infected with *Fusarium culmorum*

Ze względu na dużą liczbę stopni swobody wszystkie współczynniki korelacji pomiędzy miernikami reakcji na fuzariozę kłosa dla linii somaklonalnych okazały się istotne statystycznie (tab. 2). Najwyższe wartości współczynników korelacji uzyskano dla korelacji pomiędzy liczbą kłosów porażonych i indeksem fuzariozy kłosa a porażeniem ziarna. Jeżeli chodzi o redukcję składników struktury plonu to najwyższe współczynniki korelacji z miernikami nasilenia fuzariozy kłosa uzyskano dla redukcji masy objętościowej ziarniaków.

Tabela 2

Współczynniki korelacji mierników nasilenia fuzariozy kłosa i redukcji składników struktury plonu
Coefficients of correlation of *Fusarium* head blight severity parameters and reductions of yield components

	FHBS	FHBI	Indeks choroby Disease index	Porażenie ziarna Seed infection	Redukcja MZK Yield reduction	Redukcja MTZ TKW reduction	Redukcja masy obj. Specific weight reduction
linie somaklonalne (współczynniki korelacji istotne przy $p < 0,01$, $n = 550$) somaclonal lines (coefficients significant at $p < 0,01$, $n = 550$)							
FHBS	0,626						
Indeks fuzariozy kłosa Disease index	0,967	0,743					
Porażenie ziarna Seed infection	0,571	0,682	0,645				
Redukcja MZK Yield reduction	0,360	0,237	0,359	0,251			
Redukcja MTZ TKW reduction	0,353	0,191	0,355	0,239	0,632		
Redukcja masy obj. Specific weight reduction	0,466	0,376	0,489	0,420	0,503	0,489	
Redukcja LZK Kernel no. reduction	0,276	0,196	0,271	0,188	0,909	0,291	0,401
genotypy wyjściowe (** współczynniki korelacji istotne przy $p < 0,01$, $n = 20$) parental genotypes (**coefficients significant at $p < 0,01$, $n = 20$)							
FHBS	0,713**						
Indeks fuzariozy kłosa Disease index	0,968**	0,843**					
Porażenie ziarna Seed infection	0,679**	0,686**	0,745**				
Redukcja MZK Yield reduction	0,137	0,112	0,139	0,361			
Redukcja MTZ TKW reduction	0,058	0,014	0,082	0,211	0,847**		
Redukcja masy obj. Specific weight reduction	0,365	0,296	0,351	0,335	0,668**	0,579**	
Redukcja LZK Kernel no. reduction	0,208	0,166	0,191	0,418	0,945**	0,644**	0,672*

Dla genotypów wyjściowych stwierdzono istotność korelacji pomiędzy nasileniem choroby na kłosie a porażeniem ziarna przez *Fusarium culmorum*. Natomiast współczyn-

niki korelacji pomiędzy nasileniem choroby na kłosie a redukcją składników struktury plonu były nieistotne statystycznie i przyjmowały niższe wartości niż dla linii. Jedynie dla redukcji masy objętościowej ziarniaków wartości tych współczynników były zbliżone do tych uzyskanych dla linii. Wyniki te wskazują, że najbardziej stabilnym miernikiem redukcji plonu na skutek porażenia kłosa przez *F. culmorum* okazała się redukcja masy objętościowej ziarniaków.

DYSKUSJA

Przedstawione w niniejszej pracy wyniki wskazują, że somatyczna embriogeneza powoduje powstanie zmienności reakcji na fuzariozę kłosów wśród genotypów pszenżyta ozimego. Stwierdzono, że do pokolenia R₃ reakcja większości linii pszenżyta na porażenie kłosa przez *Fusarium culmorum* była stabilna. Jedynie u części linii obserwowano w kolejnych pokoleniach zmianę reakcji w kierunku reakcji genotypu wyjściowego. Podobne wyniki uzyskali Arseniuk i wsp. (1998) badając odporność linii somaklonalnych pszenżyta na septoriozę liści (*Stagonospora nodorum*).

Efekty zastosowania kultur *in vitro* do tworzenia zmienności odporności na choroby są trudne do przewidzenia. Zmienność somaklonalna jest dwukierunkowa tzn. prowadzi do wzrostu lub spadku odporności linii somaklonalnych w stosunku do genotypu wyjściowego (Ahmed i in., 1996, Arseniuk i in., 1998). Przykładem tego zjawiska w niniejszej pracy może być odmiana pszenżyta Almo. Wszystkie linie somaklonalne uzyskane z tej odmiany okazały się być mniej podatne od genotypu wyjściowego. Natomiast w przypadku linii LAD-285, stwierdzono, że wszystkie linie somaklonalne charakteryzowały się zwiększoną podatnością na fuzariozę kłosa. Dla pozostałych genotypów wyjściowych znaleziono wśród linii zarówno typy zwiększonej jak i obniżonej podatności.

Uzyskanie poprawy jednej określonej cechy (np. odporności na fuzariozę kłosa) wymagałoby przebadania bardzo dużej populacji zregenerowanych roślin. Wydaje się, że lepsze rezultaty przynieść może połączenie wytwarzania linii z selekcją *in vitro*. W przypadku fuzariozy kłosa jako czynnik selekcyjny posłużyć może mikotoksyna deoksyniwalenol. Deoksyniwalenol (DON) jest jedna z głównych toksyn produkowanych przez *Fusarium graminearum* i *F. culmorum*, główne patogeny fuzaryjne zbóż. Opublikowano już wyniki badań nad zastosowaniem DON-u do selekcji form odpornych pszenicy i pszenżyta *in vitro* (Posslet i Altpeter, 1994; Ahmed i in., 1996, Yang i in., 1998; Góral i in., 2000). Autorzy tych prac uzyskali formy o zwiększonej odporności na fuzariozę kłosa i pleśń śniegową. Z drugiej jednak strony Ahmed i wsp. (1994) stwierdzili, że również wśród linii somaklonalnych uzyskanych z niselekcjonowanych kalusów można znaleźć formy o odporności wyższej od odporności genotypów wyjściowych. Natomiast Hessemann i Maier (1998) nie obserwowali istotnej zmienności somaklonalnej u dojrzałych roślin pszenżyta, występowała ona jedynie na poziomie kalusa. Nie stwierdzili również wpływu selekcji kalusa z zastosowaniem DON-u na odporność zregenerowanych roślin w warunkach polowych.

Przedstawione wyniki wskazują, że efekty wykorzystania somatycznej embriogenezy w postaci zwiększonej lub zmniejszonej odporności zależą ściśle od zastosowanego genotypu pszenżyta. Chowdhury i wsp. (1994) wysnuwają wniosek, że istnienie lub brak zmienności somaklonalnej jest w dużym stopniu zależne od źródła eksplantatów, metody regeneracji (embriogeneza somatyczna lub organogeneza) oraz źródła regenerantów (kalus, protoplasty, zawiesina komórkowa). Obserwowana zmienność może również wynikać z przeniesienia zmienności z formy rodzicielskiej (Brettell i in., 1986). Jednakże nie obserwowano w niniejszej pracy związku pomiędzy odpornością genotypu wyjściowego a zróżnicowaniem odporności wśród linii somaklonalnych uzyskanych z tego genotypu. Uzyskanie form o istotnie zwiększonej odporności zależy przede wszystkim od zakresu zmienności somaklonalnej uzyskanej dla danego genotypu.

Poważnym problemem wynikającym ze stosowania kultur *in vitro* jest to, że materiał roślinny uzyskany tą drogą wykazuje niekorzystne zmiany wielu ważnych cech agronomicznych, co objawia się np. skróceniem źdźbła, obniżeniem plonu, zmniejszeniem ziarniaków. Zjawiska te opisane zostały w wielu publikacjach dotyczących zmienności somaklonalnej u zbóż (Symillides i in., 1995; Karp, 1995; Arseniuk i in., 1998; Bretziger i in., 1998, Ivanov i in., 1998).

WNIOSKI

1. Stwierdzono istnienie zmienności reakcji na porażenie kłosa przez *F. culmorum* wśród linii somaklonalnych uzyskanych z genotypów pszenżyta ozimego.
2. Największa zmienność somaklonalna wystąpiła pomiędzy liniami uzyskanymi z różnych kalusów tego samego genotypu wyjściowego, co wskazuje, że zmienność tworzy się głównie w fazie wzrostu kalusa.
3. Poszczególne genotypy wyjściowe różniły się w istotny sposób zakresem zmienności somaklonalnej podatności na fuzariozę kłosa obserwowanej wśród linii z nich uzyskanych.
4. Najwyższe współczynniki zmienności somaklonalnej stwierdzono dla redukcji masy objętościowej ziarniaków i indeksu fuzariozy kłosa; najniższy dla stopnia porażenia ziarna przez *F. culmorum*.
5. Obserwowana zmienność podatności lini pszenżyta ozimego na fuzariozę kłosa powodowaną przez *F. culmorum* była stabilna w kolejnych pokoleniach R₁-R₃. Wskazuje to, że możliwa jest trwała poprawa odporności tego zboża dzięki wykorzystaniu zmienności somaklonalnej.

LITERATURA

- Adkins S. W., Kunanuvatchaidach R., Godwin I. D. 1995, Somaclonal variation in rice — drought tolerance and other agronomic characters. *Aust. J. Bot.* 43: 201 — 209.
- Ahmed, K. Z., A. Mesterhazy, T. Bartok, Sagi F. 1996. *In vitro* techniques for selecting wheat (*Triticum aestivum* L.) for *Fusarium*-resistance. II. Culture filtrate technique and inheritance of *Fusarium*-resistance in the somaclones. *Euphytica* 91: 341 — 349.

- Arseniuk E., Czembor H. J., Zimny J., Scharen A. L., Laudański Z. 1998. Somaclonal variation as a tool for improvement of triticale resistance to *Stagonospora nodorum*. Proc. 4th International Triticale Symp., July 26-31, 1998, Red Deer, Canada: 124 — 147.
- Breiman A., Rotem-Abarbanell D., Karp A., Shaskin H. 1987. Heritable somaclonal variation in wild barley (*Hordeum sponatneum*). Theor. Appl. Genet. 74: 104 — 112.
- Brettell R. I. S., Pallotta M. A., Gustafson J. P., Appels R. 1986. Variation at the *Nor* loci in triticale derived from tissue culture. Theor. Appl. Genet. 71: 637 — 643.
- Bretzinger P., Halbert S. E., Lemaux P. G. 1998. Somaclonal variation in the progeny of transgenic barley. Theor. Appl. Genet 96: 421 — 425.
- Bruins M. B. M., Karsai I., Schepers J., Snijders C. H. A. 1993. Phytotoxicity of deoxynivalenol to wheat tissue with regard to *in vitro* selection for *Fusarium* head blight resistance. Plant Sci. 94: 195 — 206.
- Burgess L. W., Summerell B. A., Bullock S., Gott K. P., Backhouse D. 1994. Laboratory manual for *Fusarium* research. Third ed. University of Sydney, Australia.
- Chowdhury M. K. U., Vasil I. K. 1993. Molecular analysis of plants regenerated from embryogenic cultures of hybrid sugarcane cultivars (*Saccharum* spp.). 86: 181 — 188.
- Chowdhury M. K. U., Vasil V., Vasil I. K. 1994. Molecular analysis of plants regenerated from embryogenic cultures of wheat (*Triticum aestivum* L.). Theor. Appl. Genet. 87: 821 — 828.
- Góral T., Foremska E., Chełkowski J., Arseniuk E. 1995. Charakterystyka odmian pszenżyta, pszenicy i żyta pod względem odporności i tolerancji na porażenie kłosa przez *Fusarium* spp. Biuletyn IHAR 195/196: 251 — 259.
- Góral T., Perkowski J., Stachowiak J., Arseniuk E. 2000. Podatność na fuzariozę kłosów (*Fusarium culmorum*) oraz akumulacja deoksyniwaleolu w ziarnie linii somaklonalnych uzyskanych z odmian pszenżyta ozimego Moniko i Presto. Fol. Univ. Agric. Stetin. 82: 73 — 78.
- Góral T., Buśko M., Cichy H., Jackowiak H., Perkowski J. 2002. Resistance of winter triticale lines and cultivars to *Fusarium* head blight and deoxynivalenol accumulation in kernels. J. Appl. Genet 43A: 237 — 248
- Góral T., Perkowski J., Arseniuk E. 2002. Study on *Fusarium* head blight of winter triticale. Proc. 5th International Triticale Symposium, June 30–July 5, 2002, Radzików, Poland, Vol. I: 179 — 184.
- Hesseemann C. U., Maier F. J. 1998. Application of biotechnological methods as tissue and suspension culture techniques in triticale. Proc. 4th International Triticale Symp., July 26-31, 1998, Red Deer, Canada: 30 — 37.
- Ivanov P., Atanasov Z., Milkova V., Nikolova L. 1998. Culture selected somaclonal variation in five *Triticum aestivum* L. genotypes. Euphytica 104: 167 — 172.
- Karp A. 1995. Somaclonal variation as a tool for crop improvement. Euphytica 85: 295 — 302.
- Lapitan N. L. V., Sears R. G., Gill B. S. 1984. Translocations and other karyotypic structural changes in wheat × rye hybrids regenerated from tissue culture. Theor. Appl. Genet. 68: 547 — 554.
- Larkin P. J., Ryan S. A., Brettell R. I. S., Scowcroft W. R. 1984. Heritable somaclonal variation in wheat. Theor. Appl. Genet. 67: 443 — 455.
- Liang G. H., McHughen A. 1987. Novel approaches to wheat improvement. Wheat and wheat improvement. Agronomy Monograph 13: 472 — 488.
- Maier F. J., Oettler G. 1996. Genetic variation for head blight resistance in triticale caused by *Fusarium graminearum* isolates of different deoxynivalenol production. Euphytica 89: 387 — 394.
- Miedaner T. 1997. Breeding wheat and rye for resistance to *Fusarium* diseases. Plant Breeding 116: 201 — 220.
- Miedaner T., Reinbrecht C., Lauber U., Schollenberger M., Geiger H. 2001. Effects of genotype and genotype-environment interaction on deoxynivalenol accumulation and resistance to *Fusarium* head blight in rye, triticale, and wheat. Plant Breeding 120: 97 — 105.
- Parry D. W., Jenkinson P., McLeod L. 1995. *Fusarium* ear scab in small grain cereals — a review. Plant Pathol. 44: 207 — 238.
- Perkowski J. 1999. Badania zawartości toksyn fuzaryjnych w ziarnie zbóż. Roczn. AR w Poznaniu, Rozprawy Naukowe, Zeszyt 295.

- Posslet U. K., Altpeter F. 1994. Improvement of snow mould resistance by conventional and *in vitro* techniques. Euphytica 77: 251 — 255.
- Semal J., Kummert P., Lepoivre P., Meulemans, Viseur J., Anceau C. 1988. *In vitro* cultures producing pathogen-free plants and selecting disease resistant genotypes. Bull. Rech. Agron. Gembloux 23: 261 — 269.
- Symillides Y., Henry Y., De Buyser J. 1995. Analysis of Chinese Spring regenerants obtained from short- and long-term wheat somatic embryogenesis. Euphytica 82: 263 — 268.
- Van den Bulk R.W. 1991. Application of cell and tissue culture and *in vitro* selection for disease resistance breeding — a review. Euphytica 56: 269 — 285.
- Yang Z. P., Yang X. Y., Huang D. C. 1998. Studies on somaclonal variants for resistance to scab in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) through *in vitro* selection for tolerance to deoxynivalenol. Euphytica 101: 213 — 219.