

ZYGMENT KACZMAREK ¹TOMASZ WARZECHA ²TADEUSZ ADAMSKI ¹MARIA SURMA ¹¹ Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, Poznań² Katedra Hodowli Roślin i Nasiennictwa, Akademia Rolnicza, Kraków

Wielowymiarowe podejście do oceny redukcji cech struktury plonu nagich i oplewionych linii DH jęczmienia inokulowanych *Fusarium culmorum*

Multivariate approach to estimation of reduction of yield components in hulless and hulled DH lines of barley inoculated with *Fusarium culmorum*

W pracy przedstawiono wyniki badań nad oceną podatności linii podwojonych haploidów (DH) jęczmienia jarego na fuzariozę kłosa powodowaną przez *Fusarium culmorum*. Materiał do badań stanowiło 15 linii DH o ziarnie oplewionym, 15 linii o ziarnie nieoplewionym oraz dwie formy rodzicielskie RK63/1 i IN86, odpowiednio o ziarnie oplewionym i nieoplewionym. Obserwacje dotyczyły redukcji cech struktury plonu (masy 1000 ziaren, liczby i masy ziarna z kłosa oraz celności ziarna). Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono za pomocą metod wielowymiarowych. Zastosowanie tych metod uzasadnione było faktem, że obserwowane cechy są w znacznym stopniu skorelowane ze sobą i analizowanie ich oddzielnie mogłoby okazać się niewystarczające i nie w pełni obiektywne.

Słowa kluczowe: *Fusarium culmorum*, jęczmień, linie DH, MANOVA

The paper presents a multivariate approach to estimation of susceptibility of barley doubled haploids (DH) to fusarium head blight caused by *Fusarium culmorum*. Material for the study involved 15 hulled and 15 hulless DH lines and two parental forms: RK63/1 (hulled) and IN86 (hulless). Number of grains per ear, grain weight per ear, 1000-grain weight and plump kernels were observed and analyzed. The multivariate two-factor analysis of variance and related multivariate methods were applied. The results of the analysis of variance were used to estimate contrasts between the both groups of DH lines (hulled and hulless) and parental forms. The comparison of particular DH lines with the "better" parental form RK63/1, and the use of Mahalanobis distance as a measure of multivariate transgression effect permitted to distinguish transgressive lines differed from the parental ones in regard to the reduction of all yield traits treated jointly.

Key words: barley, doubled haploid, *Fusarium culmorum*, MANOVA

WSTĘP

Spośród czynników obniżających plony zbóż jednymi z częściej występujących są choroby, w szczególności choroby grzybowe (Gacek, 1983). Stąd też coraz więcej uwagi poświęca się wyhodowaniu nowych, odpornych na patogeny grzybowe odmian. W przypadku jęczmienia jarego uprawianego w Polsce fuzariozę kłosów powoduje głównie *Fusarium culmorum* i w mniejszym stopniu *Fusarium avenaceum* (Adamski i in., 1999; Chełkowski i in., 2000). Porażenie kłosów przez *Fusarium* powoduje znaczne obniżenie nie tylko plonu, ale również jakości ziarna i zdolności kiełkowania (Kaczmarek i in., 2000). Celem pracy było porównanie wielkości redukcji cech struktury plonu u linii podwojonych haploidów jęczmienia jarego o ziarnie oplewionym i ziarnie nagim inokulowanych *F. culmorum*. Zastosowano w tym celu metody analizy wielu zmiennych, w szczególności analizy wariancji (MANOVA) oraz analizy zmiennych kanonicznych.

Materiał doświadczalny

Badaniami objęto 15 linii DH o ziarnie oplewionym oraz 15 linii DH o ziarnie nieoplewionym, uzyskanych z mieszańców F_1 krzyżówki RK63/1 H 1N86. Materiał ten uzupełniały formy rodzicielskie RK63/1, o ziarnie oplewionym, otrzymane w Instytucie Genetyki Roślin PAN oraz forma 1N86, o ziarnie nieoplewionym, a także mieszańce pokoleń F_2 i F_3 . Włączenie do doświadczenia mieszańców F_2 i F_3 spowodowane było wymaganiami związanymi z przeprowadzoną niezależnie oceną efektów działania genów kontrolujących podatność linii DH na *Fusarium culmorum* (Warzecha i in., 2003). Doświadczenie obejmujące 34 genotypy (30 linii DH, 2 formy rodzicielskie i 2 pokolenia mieszańców), założone w układzie trzech bloków losowych kompletnych, zostały przeprowadzone na polach doświadczalnych Katedry Hodowli Roślin i Nasiennictwa AR w Krakowie w trzech kolejnych latach 1997–1999. Obserwacjami objęto takie cechy jak masa 1000 ziaren, liczba ziaren z kłosa, masa ziaren z kłosa oraz celność ziarna. Redukcję cech struktury plonu określono w procentach kontroli. Sposób inokulacji omówiony został w pracy Chełkowskiego i wsp. (2000).

Metody statystyczne

Kompleksową analizę statystyczną uzyskanych wyników doświadczeń przeprowadzono za pomocą ściśle ze sobą powiązanych metod wielowymiarowych (Caliński, Kaczmarek, 1973). Wybór metod wielowymiarowych uzasadniony był faktem, że obserwowane w doświadczeniach cechy są ze sobą w znacznym stopniu skorelowane i analizowanie ich tylko oddzielnie, niezależnie jedna od drugiej jest niewskazane. Przeprowadzona w pierwszym rzędzie 2-czynnikowa wielozmienna analiza wariancji (MANOVA), której czynnikami były lata i genotypy, umożliwiła weryfikację ogólnych hipotez wielowymiarowych o braku różnic między latami, między genotypami, a także hipotezy o braku interakcji lata $\times$ genotypy. Kolejnym etapem było testowanie hipotez szczegółowych implikowanych przez hipotezy ogólne. Dotyczyły one przede wszystkim różnego rodzaju porównań linii DH z formami rodzicielskimi oraz porównania grupy linii oplewionych z nieoplewionymi zarówno pod względem wszystkich cech traktowanych łącznie, jak i pod względem każdej z nich niezależnie.

Jako miarę podobieństwa linii DH do form rodzicielskich pod względem wszystkich badanych cech łącznie zaproponowano odległość Mahalanobisa. Odległości Mahalanobisa odpowiadają wartościom statystyki F wyliczonym dla wielocechowych kontrastów poszczególnych linii DH z ich formami rodzicielskimi. Oceny tych kontrastów oraz możliwość dodatkowego testowania istotności ich składowych (odnoszących się do kolejnych cech) pozwalają wspomniane odległości Mahalanobisa wykorzystać dla przeprowadzenia właściwej interpretacji uzyskanych wyników obliczeń. Mianowicie linie, których odległości Mahalanobisa od lepszej formy rodzicielskiej są istotne, czyli przewyższają odległość krytyczną wyznaczoną dla przyjętego poziomu istotności (w naszych obliczeniach jest nią $D_{0.05}$) można interpretować jako linie wykazujące istotny wielocechowy efekt transgresji, natomiast testowanie istotności jego składników da nam odpowiedź na pytanie, które cechy i w jaki sposób (dodatni bądź ujemny) o tym zadecydowały. Graficzne rozmieszczenie linii i form rodzicielskich na płaszczyźnie ze względu na wszystkie cechy łącznie było możliwe w wyniku zastosowania analizy zmiennych kanonicznych.

WYNIKI I DYSKUSJA

Przeprowadzone dwuczynnikowe analizy wariancji (wielocechowa i jednocechowa) pozwoliły odrzucić wszystkie testowane hipotezy ogólne dotyczące braku różnic między latami, między genotypami (liniami DH i ich formami rodzicielskimi) oraz hipotezy o braku interakcji genotypy $\times$ lata, zarówno pod względem wszystkich cech łącznie jak i każdej oddzielnie (tab. 1).

Tabela 1

Wartości statystyki F w wielozmiennej 2-czynnikowej analizie wariancji
 F -statistic values in 2-factor multivariate analysis of variance

Źródło zmienności Source of variation	Statystyka F dla poszczególnych cech F -statistic for particular traits				Statystyka F dla czterech cech łącznie F -statistic for four traits jointly
	masa 1000 ziaren 1000-grain weight	liczba ziaren w kłosie no. of grains per ear	masa ziarna z kłosa grain weight per ear	celność ziarna plump kernels	
Lata Years	325,94**	316,68**	493,46**	103,94**	213,84**
Genotypy Genotypes	11,29**	6,28**	4,05**	15,67**	8,70**
Lata $\times$ Genotypy Years $\times$ Genotypes	9,54**	4,43**	3,90**	13,94**	7,80**

** — Istotność na poziomie $\alpha = 0,01$

** — Significant at $\alpha = 0.01$ level

Porównanie redukcji obserwowanych cech struktury plonu w poszczególnych latach przedstawiono w tabeli 2. Podane w niej wyniki testowania różnic między latami dla poszczególnych cech pozwalają wyróżnić rok 1998 jako ten, w którym redukcja cech badanych genotypów była najmniejsza. Wyniki te potwierdza rysunek 1, przedstawiający położenie lat badań opisanych redukcją czterech badanych cech w układzie dwóch

zmiennych kanonicznych. Wykreślony dendryt najkrótszych połączeń wskazuje na wysoce istotne oddalenie punktów przedstawiających lata 1997 i 1999 od punktu przedstawiającego rok 1998. Położenie oplewionych i nieoplewionych linii w układzie dwóch pierwszych zmiennych kanonicznych przedstawia rysunek 2.

Tabela 2

Oceny i wyniki testowania kontrastów między latami dotyczących redukcji cech struktury plonu po inokulacji linii DH jęczmienia *Fusarium culmorum*
Estimates and testing the contrasts between years with regard to reduction of yield traits after inoculation of barley DH lines with *Fusarium culmorum*

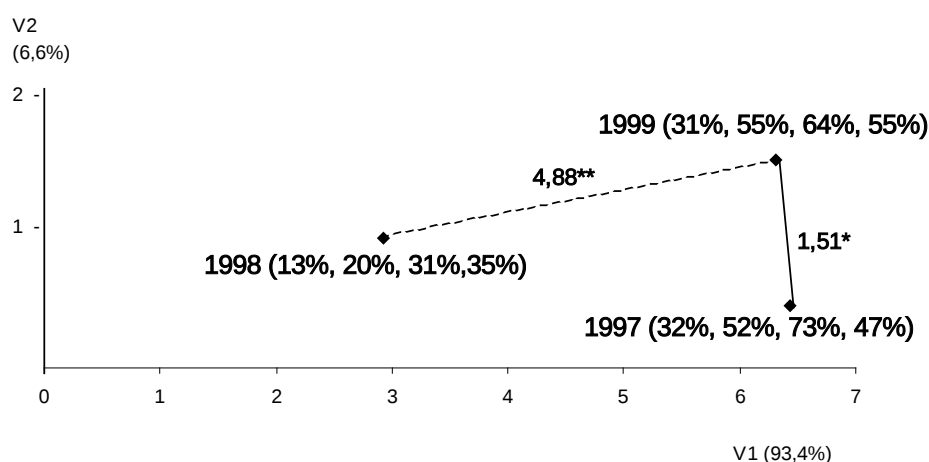
Kontrast Contrast	Ocena porównania Estimate of contrast				Wartość statystyki F dla czterech cech łącznie F-statistic for four traits jointly
	masa 1000 ziaren 1000-grain weight	liczba ziaren w kłosie no. of grains per ear	masa ziarna z kłosa grain weight per ear	celność ziarna plump kernels	
1997–1998	19,22**	31,29**	41,55**	11,08	317,18
1997–1999	1,04	-3,03*	8,36**	-8,21**	28,67
1998–1999	-18,19**	-34,32**	-33,19**	-19,29**	298,91
$F_{0,01}$					6,76

* — Kontrast istotny na poziomie $\alpha = 0,05$

* — Contrast significant at $\alpha = 0.05$ level

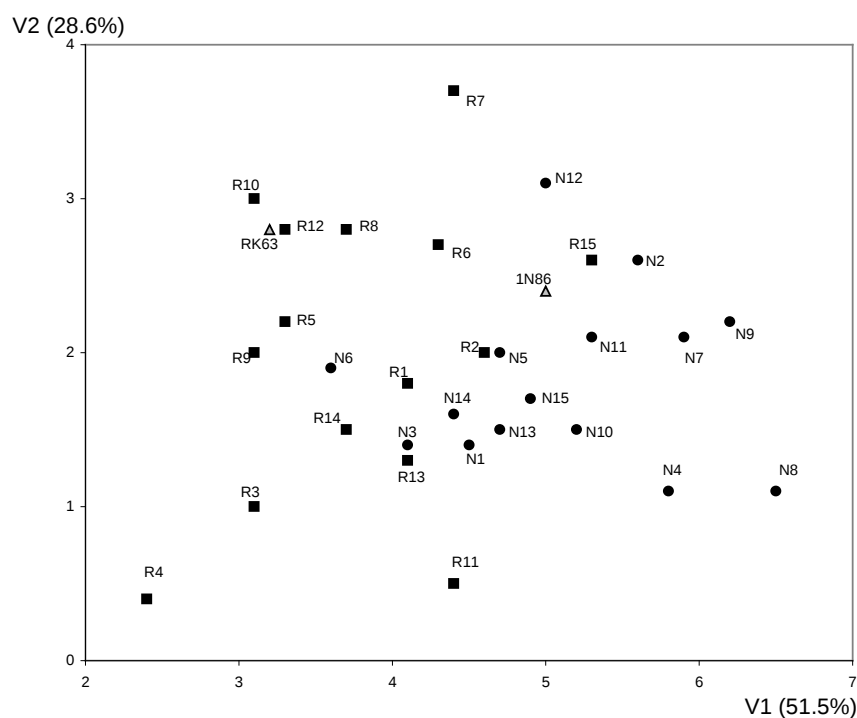
** — Kontrast istotny na poziomie $\alpha = 0,01$

** — Contrast significant at $\alpha = 0.01$ level



Rys. 1. Położenie lat w układzie dwóch zmiennych kanonicznych ze względu na redukcję cech struktury plonu linii DH jęczmienia po inokulacji *F. culmorum*

Fig. 1. Distribution of years in the space of two canonical variates with regard to the reduction of yield traits of barley DH lines after inoculation with *F. culmorum*



Rys. 2. Położenie oplewionych (R) i nagich (N) linii DH jęczmienia w układzie dwóch pierwszych zmiennych kanonicznych ze względu na procent redukcji cech struktury plonu po inokulacji *F. culmorum*

Fig. 2. Distribution of hulled (R) and hulless (N) barley DH lines in the space of two canonical variates with regard to the reduction of yield traits after inoculation with *F. culmorum*

Tabela 3

Wyniki testowania wielocechowych porównań między oplewionymi i nagimi liniami DH jęczmienia i formami rodzicielskimi po inokulacji *F. culmorum* w latach 1997–1999
Results of testing the multivariate contrasts between hulled and hulless barley DH lines and parental forms after inoculation with *F. culmorum* in 1997–1999

Porównanie Contrast	Wartość statystyki F F-statistic value			
	rok 1997 year 1997	rok 1998 year 1998	rok 1999 year 1999	średnia dla lat average for years 1997–1999
$\overline{DH}$ nag. — $\overline{DH}$ opl.	28,70	13,05	24,15	58,17
$\overline{DH}$ opl. — 1N86	0,83	11,68	4,14	6,76
$\overline{DH}$ opl. — RK63	6,83	3,21	5,19	5,26
$\overline{DH}$ nag. — 1N86	5,20	6,72	3,21	1,72
$\overline{DH}$ nag. — RK63	19,83	5,29	8,75	19,76
RK63 — 1N86	2,94	4,44	1,85	7,41
$F_{0,05}$		2,42		
$F_{0,01}$		3,42		

Można na nim wyróżnić dwa skupiska linii DH: oplewionych i nagich. Wyniki testowania najbardziej interesujących wielocechowych porównań linii DH, a mianowicie porównań grupy linii oplewionych z nieoplewionymi, średnich obu grup linii DH z obiema formami rodzicielskimi, a także porównania tych form między sobą, przeprowadzone dla każdego roku doświadczeń oraz dla całego okresu badań (średnio) zawiera tabela 3. Oceny tych porównań, dotyczące redukcji poszczególnych cech struktury plonu w kolejnych latach doświadczeń oraz średnio z 3 lat, z zaznaczeniem ich istotności, podane są w tabeli 4.

Tabela 4

Oceny wybranych kontrastów między oplewionymi i nagimi liniami DH oraz formami rodzicielskimi
jęczmienia dotyczących redukcji cech plonotwórczych po inokulacji *Fusarium culmorum*
Estimates of chosen contrasts between hulled and hulless barley DH lines and parental forms after
inoculation with *Fusarium culmorum*

Kontrast Contrast	Cecha Trait	Ocena kontrastu w latach Estimate of contrast in years			
		1997	1998	1999	średnia z 3 lat average for 3 years
$\overline{DH}_{nag.} - \overline{DH}_{opl.}$	1	5,28**	4,87**	1,27	3,81**
	2	5,17*	4,32	-4,19	1,77
	3	7,59**	5,78**	-3,55	3,27**
	4	19,44**	11,78**	18,17**	16,46**
$\overline{DH}_{opl.} - 1N86$	1	5,86	-19,54**	-10,62**	-8,10**
	2	-3,06	3,82	-6,19	-1,81
	3	-2,96	5,95	-12,47*	-3,16
	4	-1,26	-16,64**	-14,11*	-10,67**
$\overline{DH}_{opl.} - RK63$	1	9,15*	-7,90*	-16,13**	-4,96*
	2	1,59	14,66*	0,41	5,55
	3	2,04	10,52	-7,68	1,63
	4	24,79**	7,88	5,30	12,66**
$\overline{DH}_{nag.} - 1N86$	1	11,15**	-14,67**	-9,36*	-4,29*
	2	2,11	8,14	-10,40	-0,05
	3	4,63	11,72	-16,02**	0,11
	4	18,18**	-4,86	4,07	5,80
$\overline{DH}_{nag.} - RK63$	1	14,43**	-3,03	-14,86**	-1,15
	2	6,76	18,98**	-3,78	7,32
	3	9,63**	16,30**	-11,22	4,90
	4	44,23**	19,66**	23,47**	29,12**
1N86 — RK63	1	3,28	11,64*	-5,50	3,14
	2	4,65	10,84	6,61	7,37
	3	5,00	4,58	4,80	4,79
	4	26,05**	24,52**	19,40*	23,32**

1 — Masa 1000 ziaren; 1000-grain weight;

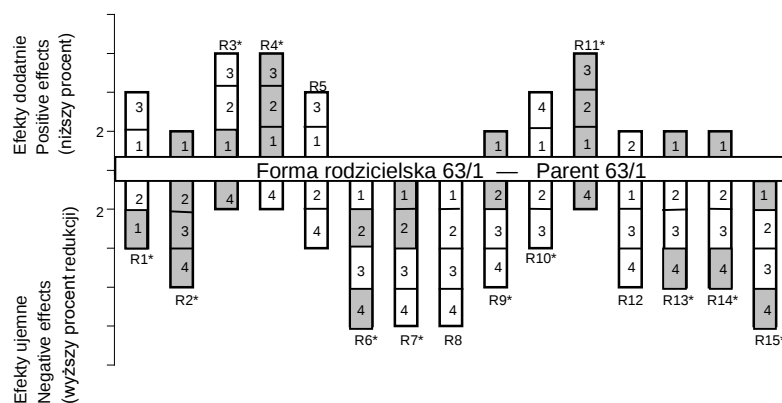
2 — Liczba ziaren w kłosie; no. of grains per ear

3 — Masa ziarna z kłosa; grain weight per ear

4 — Celność ziarna; plump kernels

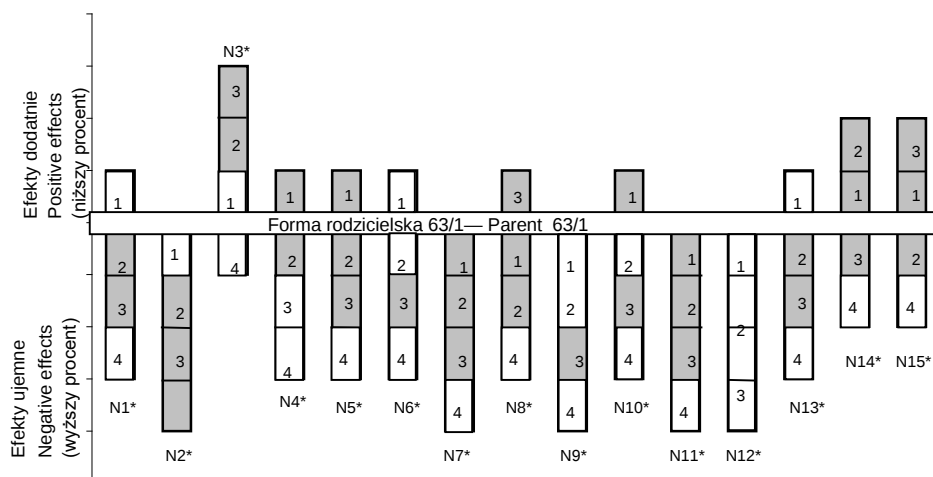
Z analizy zamieszczonych w obu tabelach rezultatów jednoznacznie wynika fakt znacznie większej redukcji cech plonotwórczych w grupie linii nieoplewionych w porównaniu z oplewionymi. Dla trzech cech różnice w redukcji były wysoce istotne nie tylko w przypadku średnich za 3 lata, lecz także w poszczególnych latach (poza masą 1000 ziaren i masą ziarna z kłosa w roku 1999). Nie stwierdzono żadnych istotnych różnic

jedynie dla liczby ziaren w kłosie. Porównanie średniej linii oplewionych z formami rodzicielskimi okazało się na ogół korzystne dla linii DH. Za wyjątkiem celności ziarna i liczby ziaren w kłosie (w roku 1998), linie te charakteryzowały się mniejszą podatnością na porażenie *F. culmorum*, aniżeli wspomniane formy RK63/1 i 1N 86. Znacznie większą zmiennością w latach odznaczał się kontrast grupy linii nagich z obiema formami rodzicielskimi. Na dodatnią bądź ujemną ocenę tego kontrastu znaczny wpływ miały warunki klimatyczne występujące w latach badań. I tak w roku 1997 sprzyjały one obu formom rodzicielskim, podczas gdy w roku 1999 były bardziej korzystne dla nieoplewionych linii DH. Wyjątek stanowiła celność ziarna, której redukcja u formy rodzicielskiej RK63/1 była w każdym roku istotnie niższa od średniej redukcji tej cechy u linii nieoplewionych. Porównanie obu form rodzicielskich pod względem redukcji cech struktury plonu potwierdziło przypuszczenia co do ogólnie większej podatności na fusariozę kłosów formy nieoplewionej 1N 86. Interesujące są rezultaty badań dotyczące efektów transgresji (zarówno jednocechowych jak i wielocechowych) przedstawione dla linii oplewionych na rysunku 3, a dla nieoplewionych na rysunku 4.



- * — Wielowymiarowy efekt transgresji istotny na poziomie $\alpha = 0,05$
- * — Multivariate transgression effect significant at $\alpha = 0.05$ level
- Jednowymiarowy efekt transgresji istotny na poziomie $\alpha = 0,05$
- Univariate transgression effect significant at $\alpha = 0.05$ level
- 1 — Masa 1000 ziaren; 1000-grain weight
- 2 — Liczba ziaren z kłosa; number of grains per ear
- 3 — Masa ziarna z kłosa; grain weight per ear
- 4 — Celność ziarna; plump kernels

Rys. 3. Oceny jedno- i wielowymiarowych efektów transgresji oplewionych linii DH jęczmienia
Fig. 3. The estimates of uni- and multivariate transgression effects of hulled DH lines



- * — Wielowymiarowy efekt transgresji istotny na poziomie $\alpha = 0,05$
 * — Multivariate transgression effect significant at $\alpha = 0.05$ level
 — Jednowymiarowy efekt transgresji istotny na poziomie $\alpha = 0,05$
 — Univariate transgression effect significant at $\alpha = 0.05$ level
 1 — Masa 1000 ziaren; 1000-grain weight
 2 — Liczba ziaren z kłosa; number of grains per ear
 3 — Masa ziarna z kłosa; grain weight per ear
 4 — Celność ziarna; plump kernels

Rys. 4. Oceny jedno- i wielowymiarowych efektów transgresji nieoplewionych linii DH jęczmienia
Fig. 4. The estimates of uni- and multivariate transgression effects of hulless DH lines

W przypadku linii oplewionych aż 12 wykazało istotną odległość Mahalanobisa w stosunku do formy rodzicielskiej RK63/1, co oznacza, że 12 linii wykazało się wielocechową transgresją ze względu na procent redukcji cech struktury plonu. Spośród nich 2 linie, R4 i R11 pod względem trzech cech: masy 1000 ziaren, liczby ziaren z kłosa i masy ziarna z kłosa, posiadały istotny, dodatni efekt transgresji, a pod względem cechy celność ziarna ujemny efekt transgresji (dla R4 — nieistotny). Wielocechowe efekty transgresji linii nieoplewionych wyznaczone „w stosunku” do tej samej formy RK63/1 okazały się we wszystkich przypadkach istotne, zaś ich oceny dla poszczególnych cech w zdecydowanej większości były ujemne. Jedyną cechą, dla której efekt transgresji okazał się dla czterech linii istotnie dodatni, była masa 1000 ziaren (rys. 4). Cechą, której procent redukcji był u wszystkich linii nieoplewionych i niemal wszystkich oplewionych (z wyjątkiem R10) wyższy aniżeli u obu form rodzicielskich była celność ziarna.

WNIOSKI

1. Zastosowanie wielocechowych metod statystycznych umożliwiło określenie różnic między latami, między obiema grupami linii DH, a także wyodrębnienie linii zrekombinowanych pod względem badanych cech struktury plonu. Stwierdzono, że rok

- 1998 okazał się rokiem, w którym redukcja cech badanych genotypów była średnio najmniejsza.
2. Wykazano, że istotnie najmniejsza redukcja cech plonotwórczych, w wyniku inokulacji *F. culmorum*, miała miejsce w grupie linii oplewionych.
 3. Większość linii oplewionych i wszystkie nieoplewione różniły się istotnie pod względem redukcji cech struktury plonu od formy rodzicielskiej RK63/1, czyli odznaczały się istotnym wielocechowym efektem transgresji.
 4. Dwie linie, R4 i R11 pod względem trzech cech: masy 1000 ziaren, liczby ziarna z kłosa i masy ziarna z kłosa, posiadały istotny, dodatni efekt transgresji, a pod względem celności ziarna ujemny efekt transgresji.
 5. Cechą, której procent redukcji był u wszystkich linii nieoplewionych i niemal wszystkich oplewionych (z wyjątkiem R10) wyższy aniżeli u obu form rodzicielskich była celność ziarna.

LITERATURA

- Adamski T., Chełkowski J., Goliński P., Kaczmarek Z., Kostecki M., Perkowski J., Surma M., Wiśniewska H. 1999. Yield reduction and mycotoxin accumulation in barley doubled haploids inoculated with *Fusarium culmorum*. J. Appl. Genet. 40: 73 — 84.
- Caliński T., Kaczmarek Z. 1973. Metody kompleksowej analizy doświadczenia wielocechowego. W: Trzecie Colloquium Metodologiczne z Agro-Biometrii, PAN i PTB Warszawa: 258 — 320.
- Chełkowski J., Wiśniewska H., Adamski T., Goliński P., Kaczmarek Z., Kostecki M., Perkowski J., Surma M. 2000. Effect of *Fusarium culmorum* head blight on mycotoxin accumulation and yield traits in barley doubled haploids. J. Phytopathology 148: 541 — 545.
- Gacek E. 1983. Analiza patogeniczności grzybów porażających jęczmień. Biul. IHAR 150: 11 — 16.
- Kaczmarek Z., Adamski T., Surma M., Chełkowski J. 2000. Wielowymiarowa ocena podatności podwojonych haploidów jęczmienia na fuzariozę kłosa. Biul. IHAR 216: 207 — 212.
- Warzecha T., Adamski T., Kaczmarek Z., Surma M. 2003. Ocena efektów działania genów kontrolujących podatność oplewionych i nieoplewionych linii DH jęczmienia na fuzariozę kłosa. Biul. IHAR 226/227: 285 — 292.