

TOMASZ WARZECHA ¹
TADEUSZ ADAMSKI ²
ZYGMUNT KACZMAREK ²
MARIA SURMA ²

¹ Katedra Hodowli Roślin i Nasiennictwa, Akademia Rolnicza, Kraków

² Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, Poznań

Ocena efektów działania genów kontrolujących podatność oplewionych i nieoplewionych linii DH jęczmienia na fuzariozę kłosa

Gene effects on susceptibility of naked and hulled barley doubled haploids to *Fusarium culmorum* head blight

W pracy przedstawiono wyniki badań dotyczących genetycznego uwarunkowania podatności nagich i oplewionych linii podwojonych haploidów (DH) jęczmienia jarego na *Fusarium culmorum*. Materiał do badań stanowiło 15 linii DH o ziarnie nagim i 15 o ziarnie oplewionym, uzyskanych z mieszańców pokolenia F₁ RK63/1 × 1N86, mieszańce pokolenia F₂ i F₃ oraz formy rodzicielskie. Ocenę podatności badanych form na fuzariozę kłosa przeprowadzono w latach 1997–1999. Doświadczenia założono na polach doświadczalnych Akademii Rolniczej w Krakowie w układzie bloków losowych w trzech powtórzeniach. Kłosa inokulowano *F. culmorum* (izolat IPO348-01) w fazie ich kwitnienia. Kontrolę stanowiły poletka z roślinami nie inokulowanymi. Oceniano masę 1000 ziaren, masę i liczbę ziaren z kłosa oraz celność ziarna. Dla uzyskanych wyników przeprowadzono analizę wariancji oraz oszacowano efekty addytywnego działania genów, dominacji i nieallelicznej interakcji *loci* homozygotycznych i heterozygotycznych. Stwierdzono, iż na wielkość redukcji badanych cech plonotwórczych po inokulacji kłosów przez *F. culmorum* wpływ miały efekty addytywnego działania genów. Ponadto wykazano, że dominowanie i niealleliczna interakcja heterozygotycznych *loci* wpływa na zakres redukcji celności ziarna wywołanej działaniem patogena.

Słowa kluczowe: *Fusarium culmorum*, jęczmień jary, podwojone haploidy, parametry genetyczne

The results concerning genetic determination of susceptibility of naked and hulled barley doubled haploids (DH) to *Fusarium culmorum* are presented. Material for the studies comprised 15 naked and 15 hulled DH lines derived from F₁ hybrids between lines RK63/1 (hulled) and 1N86 (naked). Hybrids of F₂, F₃ and parental genotypes were also included. Evaluation of the genotypes with respect to their susceptibility to *Fusarium* head blight was performed in a 3-year period. The experiments were carried out using a completely randomised block design with three replications. At full anthesis 40 spikes in each replication were inoculated with *F. culmorum* (isolate IPO348-01) by brushing single spikes with 2 ml of conidial suspension (5 × 10⁶ in 1 ml). Plots with no inoculated plants were used as controls. The following traits were observed: 1000-kernel weight, number of kernels per spike, kernel weight per

spike, and plump kernels. The results were analysed statistically. Three-way analysis of variance was performed and additive, dominance and no allelic interaction of homo- and heterozygous loci effects were estimated. It was found that additive gene effects were responsible for reduction in yield — released traits after inoculation with *F. culmorum*. The analyses also showed that dominance and no allelic interaction effects caused a significant reduction in plump kernels.

Key words: doubled haploids, *Fusarium culmorum*, genetic parameters, spring barley

WSTĘP

Fuzariozy zbóż kwalifikowane są w Polsce na trzecim miejscu wśród chorób grzybowych redukujących plony ziarna (Packa, 1994). Patogeniczne gatunki *Fusarium* mogą porażać rośliny w różnych stadiach wzrostu i rozwoju wywołując zgorzel siewek, zgniliznę korzeni, zgorzel podstawy źdźbła oraz fuzariozę kłosów (Wojciechowski i in., 1997; Warzecha i in., 2000). W Polsce jako główny patogen kłosa dominuje *F. culmorum* (Chełkowski i in., 2000). Fuzarioza kłosa prowadzi do istotnego obniżenia plonu i zdolności ziarna do kiełkowania, a także do akumulacji silnie toksycznych, grzybowych metabolitów wtórnych (mykotoksyn) (Abramson i in., 1987; Snijders i Perkowski, 1990; Mirocha, 1994).

Zróznicowana odporność roślin na infekcje wywoływane czynnikami biotycznymi, przejawia się głównie w wielkości redukcji cech struktury plonu oraz w stopniu porażenia ziarna i kłosa. Celem badań było określenie genetycznego zróżnicowania podatności kłosów na *Fusarium culmorum* u nagich i oplewionych linii podwojonych haploidów jęczmienia.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiło 30 linii DH jęczmienia (15 o ziarnie nagim i 15 o ziarnie oplewionym) uzyskanych z mieszańców pokolenia F_1 RK63/1 $\times$ 1N86, mieszańce pokolenia F_2 i F_3 oraz formy rodzicielskie. RK63/1 jest linią DH o ziarnie oplewionym, natomiast 1N86 formą o ziarnie nagim.

Ocenę podatności badanych form na fuzariozę kłosa przeprowadzono na polach doświadczalnych Katedry Hodowli Roślin i Nasiennictwa Akademii Rolniczej w Krakowie w latach 1997, 1998 i 1999. Doświadczenia założono w układzie bloków całkowicie losowych w trzech powtórzeniach. Nasiona wysiewano na poletkach o powierzchni 2 m². Kłosa inokulowano w fazie ich kwitnienia izolatem IPO348-01 *Fusarium culmorum*, pochodzącym z Instytutu Ochrony Roślin w Wageningen. W każdym powtórzeniu inokulowano 40 kłosów nanosząc 2 ml zawiesiny zarodników o stężeniu 5×10^6 na 1 ml roztworu. Zainokulowane kłosa zakrywano na okres 48 h wilgotnymi workami plastikowymi, w celu zapewnienia możliwie maksymalnej wilgotności (Goliński i in., 1996). Zbiór ziarna przeprowadzono w fazie dojrzałości pełnej. Kontrolę stanowiły poletka z roślinami nie inokulowanymi. Oceniano masę 1000 ziaren, masę i liczbę ziaren z kłosa oraz celność ziarna. Określono procent redukcji wartości badanych cech u form inokulowanych w stosunku do kontroli według wzoru:

$$100 - (\text{forma inokul.} \times 100 / \text{forma kontrolna}).$$

Dla uzyskanych wyników przeprowadzono analizę wariancji oraz oszacowano efekty addytywnego działania genów [d], dominacji [h] i nieallelicznej interakcji *loci* homozygotycznych [i] i heterozygotycznych [l] (Kaczmarek i in., 1988; Surma i in., 1994; Surma i in., 1997).

WYNIKI I DYSKUSJA

W tabeli 1 zamieszczono średnie z trzech lat dla redukcji badanych cech u form rodzicielskich, mieszańców pokolenia F₂ i F₃ oraz linii DH z wyróżnieniem ich maksymalnych i minimalnych wartości. W tabeli 2 przedstawiono dwuczynnikową analizę wariancji; czynnikami były lata oraz genotypy. Jak można zauważyć zarówno linie podwojonych haploidów, jak i ich formy rodzicielskie różniły się istotnie pod względem analizowanych cech struktury plonu. Różnice w stopniu redukcji cech plonotwórczych między liniami o maksymalnej i minimalnej wartości tych cech wahały się w granicach od 4,8 do 88,3% (tab. 1). Wpływ lat badań jak i interakcji genotyp × środowisko były istotne dla wszystkich badanych cech.

Tabela 1

Średnie wartości cech struktury plonu (w % redukcji) u form rodzicielskich, mieszańców F₂ i F₃ i linii DH otrzymanych z mieszańców F₁ RK 63/1 × 1N86 po inokulacji *Fusarium culmorum*
Mean values for yield structure traits (shown as the percentage of reduction) in parental forms, the F₂ and F₃ hybrids, and DH lines derived from F₁ hybrids after inoculation with *Fusarium culmorum*

Generacje Generation	Doświadczenie Experiment	Masa 1000 ziaren 1000-kernel weight	Liczba ziaren z kłosa No. of kernels per ear	Masa ziarna z kłosa Kernel weight per ear	Celność ziarna Plump kernels
RK63/1 (RK)	1997	22,04	47,37	66,80	14,23
	1998	18,01	4,84	18,89	23,12
	1999	45,11	55,99	72,23	40,95
1N86 (N)	1997	25,32	52,01	71,79	40,29
	1998	29,66	15,68	23,47	47,64
	1999	39,61	62,60	77,03	60,35
F ₂ (RK × N)	1997	18,31	53,38	67,38	32,58
	1998	6,53	9,63	9,55	12,46
	1999	42,40	54,43	68,65	52,42
F ₃ (RK × N)	1997	15,32	52,58	71,96	33,29
	1998	11,56	7,84	32,39	15,94
	1999	45,01	52,43	71,30	48,24
Linie DH min. DH lines min.	1997	12,09	33,70	55,58	31,27
	1998	4,85	17,38	13,21	16,29
	1999	4,92	23,77	37,56	27,55
Linie DH maks. DH lines max.	1997	42,09	70,51	76,67	59,34
	1998	22,68	53,27	59,96	72,83
	1999	42,72	79,16	70,66	88,30
Linie DH średnie DH lines mean	1997	33,83	51,54	72,63	48,75
	1998	12,55	21,66	32,30	36,89
	1999	29,62	54,30	62,78	55,30

Oceny parametrów genetycznych związanych z efektami addytywnego działania genów, dominacji oraz współdziałania genów nieallelicznych zamieszczono w tabeli 3.

Tabela 2

Dwuczynnikowa analiza wariancji dla redukcji cech struktury plonu po inokulacji *F. culmorum*
Two-way analysis of variance for reduction of yield structure characters in barley after inoculation with *F. culmorum*

Źródło zmienności Source of variability	Liczba stopni swobody Degrees of freedom	Masa 1000 ziaren 1000-kernel weight		Liczba ziarna z kłosa No. of kernels per ear		Masa ziarna z kłosa Kernel weight per ear		Celność ziarna Plump kernels		Wartości krytyczne Critical values	
		średni kwadrat mean square	statystyka F F-statistic	średni kwadrat mean square	statystyka F F-statistic	średni kwadrat mean square	statystyka F F-statistic	średni kwadrat mean square	statystyka F F-statistic	F _{0,05}	F _{0,01}
Bloki Block	2	13,55	0,37	32,00	0,28	67,75	0,68	407,43	4,43	3,04	4,71
Lata (Y) Year (Y)	2	11922,38	325,94	36818,03	316,68	49256,44	493,46	9562,38	103,94	3,04	4,71
Genotypy (G) Genotypes (G)	33	413,02	11,29	730,24	6,28	404,20	4,05	1442,06	15,67	1,49	1,76
Y × G	66	348,97	9,54	514,91	4,43	389,12	3,90	1282,24	13,94	1,37	1,56
Błąd Error	202	36,58		116,26		99,82		92,00			

W badanej kombinacji krzyżówkowej wielkość redukcji masy 1000 ziaren wywołanej przez *F. culmorum* zależna była od genów o działaniu addytywnym. Efekty związane z interakcją *loci* homozygotycznych wpływały korzystnie, powodując zmniejszenie spadku wartości tej cechy u form inokulowanych. Uzyskane oceny parametru [h] i [l] nie pozwalają na stwierdzenie wpływu dominacji lub współdziałania *loci* heterozygotycznych na poziom redukcji masy 1000 ziaren (tab. 3).

Tabela 3

Wyniki testowania hipotez dotyczących parametrów genetycznych dla redukcji masy 1000 ziaren po inokulacji *F. culmorum*
The results of testing the hypotheses concerning the genetic parameters for reduction in 1000-kernel weight after inoculation with *F. culmorum*

Parametr Parameter	Rok Year			
	1997	1998	1999	średnia mean
[d] ocena estimate	15,00	8,92	18,90	14,27
statystyka F F-statistic	36,90**	13,05**	58,60**	100,24**
[h] ocena estimate	-117,03	4,08	97,58	-5,12
statystyka F F-statistic	16,23**	0,02	11,28**	0,09
[i] ocena estimate	-6,74	1,21	-5,80	-4,12
statystyka F F-statistic	7,98**	0,26	5,91**	7,51**
[l] ocena estimate	171,97	-32,27	-144,00	-1,44
statystyka F F-statistic	7,53**	0,27	5,28**	0,00

* — Istotne przy $\alpha = 0,05$; Significant at $\alpha = 0.05$

** — Istotne przy $\alpha = 0,01$; Significant at $\alpha = 0.01$

Dla redukcji liczby ziaren z kłosa istotne okazały się efekty addytywnego działania genów. Współdziałanie genów nieallelicznych w stanie homozygotycznym wpływało na zwiększenie wrażliwości badanych form na *F. culmorum* przejawiające się spadkiem liczby ziaren z kłosa u linii inokulowanych. Efekty związane ze stanem heterozygotycznym *loci* były nieistotne (tab. 4).

Wielkość redukcji masy ziaren z kłosa zależała głównie od sumujących się efektów działania genów homozygotycznych i ich nieallelicznego współdziałania (tab. 5).

W przypadku celności ziarna, wielkość redukcji uzależniona była zarówno od addytywnego działania genów, jak i dominowania. Istotny wpływ na ekspresję tej cechy miały również efekty związane ze współdziałaniem *loci* w stanie heterozygotycznym. Uwagę zwracają ujemne wartości parametru [h] i dodatnie [l]. Może to świadczyć o przewadze efektów związanych z interakcją *loci* heterozygotycznych nad efektami dominacji w kierunku większej redukcji liczby ziaren z kłosa (tab. 6).

Tabela 4

Wyniki testowania hipotez dotyczących parametrów genetycznych dla redukcji liczby ziaren z kłosa po inokulacji *F. culmorum*

Estimates of genetic parameters for reduction in number of kernels per ear after inoculation with *F. culmorum*

Parametr Parameter	Rok Year			
	1997	1998	1999	średnia mean
[d] ocena estimate statystyka F F-statistic	18,41	17,94	27,69	21,35
	17,48**	16,62**	39,58**	70,56**
[h] ocena estimate statystyka F F-statistic	4,62	-86,46	-15,26	-32,37
	0,01	2,79**	0,07	1,17
[i] ocena estimate statystyka F F-statistic	0,56	13,66	-2,83	3,80
	0,02	10,33**	0,44	2,39**
[l] ocena estimate statystyka F F-statistic	-1,92	124,82	31,04	51,31
	0,00	1,25	0,08	0,63

* — Istotne przy $\alpha = 0,05$; Significant at $\alpha = 0.05$

** — Istotne przy $\alpha = 0,01$; Significant at $\alpha = 0.01$

Tabela 5

Wyniki testowania hipotez dotyczących parametrów genetycznych dla redukcji masy ziarna z kłosa po inokulacji *F. culmorum*

Estimates of genetic parameters for reduction in kernel weight per ear after inoculation with *F. culmorum*

Parametr Parameter	Rok Year			
	1997	1998	1999	średnia mean
[d] ocena estimate statystyka F F-statistic	10,55	23,38	16,55	16,83
	6,69**	32,85**	16,47**	51,05**
[h] ocena estimate statystyka F F-statistic	5,12	-26,88	56,38	11,52
	0,01	0,31	1,38	0,17
[i] ocena estimate statystyka F F-statistic	-6,50	4,28	-8,87	-3,63
	2,72**	1,18	4,84**	2,54**
[l] ocena estimate statystyka F F-statistic	-31,20	-37,15	-89,28	-52,56
	0,09	0,13	0,74	0,77

* — Istotne przy $\alpha = 0,05$; Significant at $\alpha = 0.05$

** — Istotne przy $\alpha = 0,01$; Significant at $\alpha = 0.01$

Tabela 6

**Wyniki testowania hipotez dotyczących parametrów genetycznych dla redukcji celności ziarna
po inokulacji *F. culmorum***
Estimates of genetic parameters for reduction in plump kernels after inoculation with *F. culmorum*

Parametr Parameter		Rok Year			
		1997	1998	1999	średnia mean
[d]	ocena estimate	14,03	28,27	30,37	24,22
	statystyka F F-statistic	12,85**	52,12**	60,15**	114,82**
[h]	ocena estimate	-91,33	-118,8	-50,88	-86,96
	statystyka F F-statistic	3,93**	6,65**	1,22	10,70**
[i]	ocena estimate	-3,44	7,66	2,59	2,27
	statystyka F F-statistic	0,83	4,11**	0,47	1,08
[l]	ocena estimate	117,92	139,84	90,08	116,00
	statystyka F F-statistic	1,41	1,98**	0,82	4,08**

* — Istotne przy $\alpha = 0,05$; Significant at $\alpha = 0.05$

** — Istotne przy $\alpha = 0,01$; Significant at $\alpha = 0.01$

Znajomość sposobu działania genów wpływających na ekspresję cech ilościowych w znacznym stopniu ułatwia planowanie i prowadzenie prac hodowlanych. W przypadku hodowli form samopylnych istotne efekty związane ze stanem homozygotycznym *loci* (addytywne działanie genów i ich współdziałanie) wskazują na możliwość wyselekcjonowania form transgresyjnych pod względem danej cechy. Z kolei istotne wartości parametrów określających efekty dominowania lub nieallelicznej interakcji heterozygotycznych *loci* świadczy, iż w miarę wzrostu homozygotyczności w kolejnych pokoleniach może nastąpić obniżenie lub podwyższenie wartości badanych cech w kierunku średniej dla form rodzicielskich. Uzyskane wyniki badań wskazują, iż redukcja wartości badanych elementów struktury plonu wywołana inokulacją kłosów przez *F. culmorum* w każdym przypadku była uzależniona od działania genów w stanie homozygotycznym. Podobne wyniki otrzymali Adamski i wsp. (1999) oraz Surma i wsp. (2000) badając podatność 2-i 6-rzędowych linii podwojonych haploidów jęczmienia jarego na fuzariozę kłosa. Wskazuje to na możliwość wyselekcjonowania form o zmniejszonej podatności na działanie patogena. Istotny wpływ efektów związanych ze stanem heterozygotycznym *loci* na wielkość redukcji celności ziarna, może spowodować zwiększenie szans wyhodowania form o zwiększonej odporności na *F. culmorum* w przypadku prowadzenia selekcji z niższą intensywnością.

WNIOSKI

1. Na wielkość redukcji masy 1000 ziaren, masy i liczby ziaren z kłosa oraz celność ziarna, wywołanej inokulacją kłosów przez *F. culmorum*, istotny wpływ wywierały efekty addytywnego działania genów.
2. Współdziałanie genów homozygotycznych powodowało zwiększenie wrażliwości badanych form na patogena, przejawiające się spadkiem liczby ziaren z kłosa u linii inokulowanych.
3. Wpływ genów w stanie heterozygotycznym na stopień redukcji badanych cech u form inokulowanych uwidocznił się w przypadku masy 1000 ziaren i celności ziarna.

LITERATURA

- Abramson D., Clear R. M., Nowicki T. W. 1987. *Fusarium* species and trichothecene mycotoxins in suspect samples of 1985 Manitoba wheat. Can. J. Plant Sci. 67: 611 — 619.
- 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* (W.G.Sm) Sacc. J. Appl. Genet. 40: 73 — 84.
- 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. Phytopatology 148: 541 — 545.
- Goliński P., Kiecana I., Kaczmarek Z., Kostecki M., Kaptur P., Wiśniewska H., Chełkowski J. 1999. Scabresponse of selected winter wheat cultivars after inoculation with *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc. J. Phytopatology 147: 421 — 425.
- Kaczmarek Z., Surma M., Adamski T. 1988. Epistatic effects in estimation of the number of genes on the basis of doubled haploid lines. Genet. Pol. 29: 353 — 359.
- Mirocha C. J., Weiping Xie, Yichun Xu, Wilcoxon R. D., Woodward R. P., Etabarian R. H., Behele G. 1994. Production trichothecene mycotoxins by *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum* on barley and wheat. Mycopathologia 128: 19 — 23.
- Packa D. 1994. Wpływ toksyn fuzaryjnych na przebieg mitozy u zbóż i bobiku. Hod. Rośl. Nasien. 1: 3 — 7.
- Snijders C. H. A., Perkowski J. 1990. Effects of head blight caused by *Fusarium culmorum* on toxin content and weight of wheat kernels. J. Phytopatology 80: 566 — 570.
- Surma M., Adamski T., Kaczmarek Z. 1984. The use of doubled haploid lines for estimation of genetic parameters. Genet Pol. 25: 27 — 32.
- Surma M., Kaczmarek Z., Adamski T. 1997. Estimation of genetic parameters based on doubled haploids and early generations. P. Krajewski, Z. Kaczmarek (eds.). Poznań: 281 — 284.
- Surma M., Adamski T., Chełkowski J., Goliński P., Kaczmarek Z., Kostecki M., Perkowski J., Wiśniewska H. 2000. Genetic determination of variability of barley doubled haploids inoculated with *Fusarium culmorum* (W.G.Sm) Sacc. with regard to mycotoxin accumulation and reduction of yield traits. J. Appl. Genet. 41: 237 — 246.
- Wojciechowski S., Chełkowski J., Ponitka A., Ślusarkiewicz-Jarzina A. 1997. Evaluation of spring and winter wheat reaction to *Fusarium culmorum* and *Fusarium avenaceum*. J. Phytopatology 145: 99 — 103.
- Warzecha T., Wiśniewska H., Adamski T., Surma M. 2000. Efekty działania genów kontrolujących podatność siewek linii podwojonych haploidów jęczmienia na *Fusarium culmorum*. Biul. IHAR 216: 201 — 205.