

GRZEGORZ LEMAŃCZYK**ALEKSANDER ŁUKANOWSKI****ANNA BATURO-CIEŚNIEWSKA**

Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy im. J. J. Śniadeckich w Bydgoszczy

Kierownik Tematu: dr hab. inż. Grzegorz Lemańczyk prof. Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy,

Pracownia Fitopatologii i Mykologii Molekularnej, ul. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz, tel. 52 3749491,

e-mail: grzegorz.lemanczyk@utp.edu.pl

Prace zostały wykonane w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi nr HOR.hn.802.10.2018, Zadanie 29.

Poszukiwanie źródeł odporności owsa (*Avena sativa* L.) na nowy patogeniczny i mykotoksynotwórczy gatunek — *Fusarium* *langsethiae*

Searching for oat (*Avena sativa* L.) resistance to a new pathogenic
and mycotoxigenic species — *Fusarium langsethiae*

Słowa kluczowe: *Fusarium langsethiae*, hodowla odpornościowa, owies, postęp hodowlany, real-time PCR, wrażliwość genotypów

ZADANIE NR 29

Przyczyną fuzariozy występującej na wiekach owsa, jak i kłosach innych zbóż, są różne gatunki *Fusarium*. W warunkach Polski oraz innych krajów Europy są to głównie *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae* i *F. avenaceum*. Szkodliwość tych grzybów polega nie tylko na zmniejszeniu ilości plonu, ale także na pogorszeniu cech technologicznych ziarna, a zwłaszcza zanieczyszczeniu go mykotoksynami. W ubiegłym dziesięcioleciu w Europie stwierdzono występowanie nowego gatunku tego rodzaju — *Fusarium langsethiae*. Początkowo opisywano go jako prószysta forma gatunku *F. poae* (Torp i Langseth, 1999). Jednak w 2004 r. Torp i Nirenberg prószyste formy *F. poae* sklasyfikowali jako odrębny gatunek — *F. langsethiae*. W Polsce występowanie tego gatunku po raz pierwszy stwierdzono w 2006 r. (Łukanowski i in., 2008; Lemańczyk 2008). Ze względu na to, że brak wyraźnych objawów porażenia przez *F. langsethiae* na wiekach oraz ziarnie owsa identyfikacja obecności tego grzyba jest możliwa tylko

w warunkach laboratoryjnych, w tym wykorzystaniem techniki Real-Time PCR. W badaniach dotyczących odporności genotypów na porażenie przez *F. langsethiae* pomocny jest również test liściowy (Imathiu i in., 2009, 2013).

W ramach zadania nr 29 w 2018 roku wykonywano dwa tematy badawcze:

- analiza odporności owsa na porażenie przez *F. langsethiae* prowadzona w formie testu liściowego,
- analiza odporności owsa na *F. langsethiae* na podstawie jego analizy ilościowej w ziarnie techniką Real-Time PCR.

TEMAT 1. ANALIZA ODPORNOŚCI OWSA NA PORAŻENIE PRZEZ *F. LANGSETHIAE* PROWADZONA W FORMIE TESTU LIŚCIOWEGO

Celem tematu było poszukiwanie genotypów owsa odpornych lub wykazujących cechy zmniejszonej podatności na porażenie przez izolaty *F. langsethiae* o zróżnicowanej wirulencji. Badania obejmowały 40 genotypów owsa, w tym 6 gatunków. Oprócz owsa zwyczajnego (forma oplewiona i nieoplewiona), przebadano po dwa genotypy *Avena strigosa*, *Avena fatua*, *Avena magna*, *Avena insularis* i *Avena sterilis*. Na przebadane genotypy owsa składało się również 10 odmian, 18 rodów hodowlanych oraz 2 genotypy formy ozimej owsa zwyczajnego. Materiał badawczy pozyskano od firm zajmujących się hodowlą owsa: Danko Hodowla Roślin, Małopolska Hodowla Roślin, Hodowla Roślin Strzelce oraz COBORU SDOO w Chrzęstowie. Do sztucznej inokulacji użyto dwa izolaty *F. langsethiae* pozyskane z ziarna owsa (FL 11H4 i FL 298P5) i jeden z pszenicy ozimej (FL 9P1-7). Ocenę wykonano została zgodnie z metodyką opisaną przez Imathiu i in. (2009).

W przeprowadzonym teście liściowym najsilniejszą wirulencją odznaczał się izolat FL 9P1-7 a najsłabszą izolat FL 11H4. Porażeniu przez *F. langsethiae* uległy wszystkie gatunki owsa. Najdłuższą długość strefy z nekrozą na liściach zanotowano dla formy nieoplewionej *A. sativa* a najkrótszą — dla *A. sterilis*. Długość nekrozy obserwowana dla poszczególnych gatunków była zróżnicowana w zależności od genotypu owsa i izolatu *F. langsethiae* zastosowanego do testowania wrażliwości.

Spośród 18 przebadanych rodów hodowlanych średnio dla trzech izolatów *F. langsethiae* najmniej wrażliwym był ród STH 8.25 i POB 3938/14, a najbardziej wrażliwym — DC10067/10/2/4. Zaobserwowano jednak odmienną wrażliwość rodów na poszczególne izolaty patogena. Najmniej wrażliwym na porażenie przez FL 11H4 był ród DC 10054/8/1/1/1, na FL 298P5 — ród STH 8.30, na FL 9P1-7 — ród STH 8.30. Najbardziej wrażliwymi rodami były odpowiednio DC10061/1/1/2, POB 5710/16 i POB 3938/14.

Spośród 10 odmian owsa najmniej wrażliwą na *F. langsethiae* była odmiana Bingo, a najbardziej wrażliwą — Amant. Najmniej wrażliwą na porażenie przez FL 11H4 była odmiana Bingo i Agent, na izolat FL 298P5 — Bingo, na FL 9P1-7 — Kozak. Najbardziej wrażliwymi odmianami owsa były odpowiednio: Nagus; Armani; Amant.

TEMAT 2. ANALIZA ODPORNOŚCI OWSA NA *F. LANGSETHIAE* NA PODSTAWIE JEGO ANALIZY ILOŚCIOWEJ W ZIARNIE TECHNIKĄ REAL-TIME PCR

Celem tematu było poszukiwanie genotypów owsa odpornych lub wykazujących cechy zmniejszonej podatności na porażenie przez *F. langsethiae* na podstawie jego analizy ilościowej w ziarnie techniką Real-Time PCR. Aby zrealizować ten cel przeprowadzono analizę ilościową zasiedlenia ziarna rodów hodowlanych, odmian uprawnych owsa, gatunków owsa przez tego patogena. Badania wykonano dla ziarna 40 prób genotypów owsa pochodzących z doświadczeń prowadzonych w warunkach naturalnych, oraz 15 genotypów z doświadczenia ze sztuczną inokulacją *F. langsethiae*. Analizę-Real Time PCR przeprowadzono z użyciem specyficznych gatunkowo starterów i barwnika SYBR Green I na termocyklerze LIGHTCycler 480 II firmy Roche.

Wykorzystując technikę Real-Time PCR stwierdzono zróżnicowanie wrażliwości genotypów owsa pozyskanych od firm zajmujących się hodowlą. Najwyższe stężenie DNA *F. langsethiae* odnotowano w próbach pochodzących ze Strzelec, znacznie mniejsze w próbach z Kopaszewa i Polanowic. Średnio największe stężenie DNA *F. langsethiae* stwierdzono w ziarnie rodu hodowlanego POB 3938/14, najmniej w ziarnie rodu DC 18-4.

W ziarnie odmian owsa pozyskanych z doświadczeń prowadzonych przez COBORU najwięcej grzyba stwierdzono w ziarnie pochodzącym z ZDOO Dukla, znacznie mniej z ZDOO Żabnica i SDOO Wróćkowo. Średnio z trzech miejscowości największe stężenie DNA *F. langsethiae* odnotowano w ziarnie odmiany Romulus a najmniejsze w ziarnie odmiany Monsun.

W ziarnie owsa pochodzącego z doświadczenia, w którym prowadzono sztuczną inokulację wiech grzybem *F. langsethiae* średnie stężenie tego patogena wynosiło 12872,94 pg DNA / kg ziarna owsa, natomiast w kombinacjach kontrolnych bez sztucznej inokulacji — 1,44 pg DNA / kg. Najwyższe stężenie *F. langsethiae* stwierdzono w ziarnie odmiany Krezus. Grzyba tego nie stwierdzono w ziarnie rodów hodowlanych DC10067/10/2/4, POB 5547/16, STH 11215 i STH 11315. W kombinacji kontrolnej obecność patogena odnotowano tylko w ziarnie rodów hodowlanych DC 10054/8/1/1/1, POB 3913/14, owsie głuchym i owsie szorstkim.

W wyniku przeprowadzonej izolacji grzybów na pożywce PDA, z ziarna owsa o różnym genotypie, izolaty *F. langsethiae* stanowiły 0,06%. W próbach tych stwierdzono również różne gatunki grzybów rodzaju *Fusarium*, spośród których dominował *F. poae*. Rzadziej izolowano *F. avenaceum*, *F. graminearum*, *F. sporotrichoides*, *F. tricinctum*, *F. culmorum*, *F. equiseti* i *F. crookwellense*. Ziarno owsa najczęściej było zasiedlone przez gatunki saprotroficzne, przede wszystkim *Alternaria alternata*, rzadziej *Epicoccum nigrum* i *Gonatobotrys simplex*.

WNIOSKI

1. Izolaty *Fusarium langsethiae* cechowały się zróżnicowaną wirulencją wobec badanych liści owsa. Najsilniejszą wirulencją odznaczał się izolat z pszenicy — FL 9P1-7, a najsłabszą izolat FL 11H4 (z owsa).
2. Wszystkie przebadane gatunki owsa były porażane przez *F. langsethiae*. Większą długość nekroz charakterystycznych dla porażenia *F. langsethiae* stwierdzono na liściach owsa zwyczajnego nieoplewionego, a najmniejszą na liściach *Avena sterilis*.
3. W teście liściowym odnotowano zróżnicowanie w podatności analizowanych rodów hodowlanych owsa na *F. langsethiae*. Najmniejszą wrażliwością odznaczały się rody hodowlane STH 8.25 i POB 3938/14, a najbardziej wrażliwym był ród DC10067/10/2/4.
4. Spośród odmian najmniej wrażliwą na *F. langsethiae* okazała się odmiana Bingo, a najbardziej — Amant.
5. Duża czułość analizy Real-Time PCR na obecność *F. langsethiae* w ziarnie owsa okazała się przydatna w określaniu podatności owsa na porażenie przez tego patogena.
6. Obecności DNA grzyba nie stwierdzono w ziarnie rodów hodowlanych: DC10067/10/2/4, POB 5547/16, STH 11315 i STH 11215. Z przebadanych odmian najmniej grzyba odnotowano w ziarnie odmiany Monsun.
7. Zarówno w teście liściowym jak i analizie Real-Time PCR nie stwierdzono istnienia genotypów owsa całkowicie odpornych na porażenie przez *F. langsethiae*.
8. Genotypy owsa, dla których w zebranych ziarnie nie stwierdzono obecności *F. langsethiae* mogą stanowić podstawę do uzyskania odmian o istotnie ulepszonej odporności.

LITERATURA

- Imathiu S. M., Edwards S. G., Ray R. V., Back M. A. 2013. *Fusarium langsethiae* — a HT-2 and T-2 Toxins Producer that Needs More Attention. J. Phytopathol. 161: 1 — 10.
- Imathiu S. M., Ray R. V., Back M., Hare M. C., Edwards S. G. 2009. *Fusarium langsethiae* pathogenicity and aggressiveness towards oats and wheat in wounded and unwounded in vitro detached leaf assays. Eur. J. Plant Pathol. 124: 117 — 126.
- Lemańczyk G. 2008. Zasiadlenie ziarna pszenicy ozimej przez grzyby rodzaju *Fusarium* w zależności od zdrowotności podstawy źdźbła, Zesz. Probl. Post. Nauk Roln. 529: 65 — 71.
- Łukanowski A., Lenc L., Sadowski C. 2008. First report on the occurrence of *Fusarium langsethiae* isolated from wheat kernels in Poland. Plant Dis. 92 (3): 488.
- Torp M., Langseth W. 1999. Production of T-2 toxin by *Fusarium* resembling *Fusarium poae*. Mycopathologia 147: 89 — 96.
- Torp M., Nirenberg H. I. 2004. *Fusarium langsethiae* sp. nov. on cereals in Europe. Int. J. Food Microbiol. 95: 247 — 256.