

REZULTATI VEČLETNEGA PROUČEVANJA GENSKEGA MATERIALA KORUZE NA ODPORNOST PROTI GLIVIČNIM BOLEZNIM TER MOŽNOSTI NJEGOVE UPORABE V ŽLAHTNJENJU RASTLIN

Ludvik ROZMAN¹

Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana

IZVLEČEK

Visok in kakovosten pridelek v kmetijstvu, ki je končni cilj žlahtnjenja rastlin, je v veliki meri odvisen tudi od genetske odpornosti/tolerantnosti požlahtnjenih kultivarjev na boleznih in škodljivcih. Zato je sistematično proučevanje žlahtniteljskega materiala eden od ključnih elementov v dolgoročnih žlahtniteljskih programih. Ker je pojav določenega patogena močno odvisen od vremenskih razmer, je za proučevanje genetske odpornosti genotipa najustrežnejše umetno okuževanje v naravnih razmerah. Z namenom analize odpornosti genskega materiala koruze ter njihovega vključevanja v žlahtnjenje, na Biotehniški fakulteti v Ljubljani že več let sistematično proučujemo odpornost domačega genskega materiala koruze iz genske banke. V poljskih razmerah z umetnim okuževanjem smo 82 linij in 80 populacij koruze testirali na odpornost na glivo *Fusarium subglutinans* (Wollenw. & Reinking) P. E. Nelson, Toussoun & Marasas. Najodpornejše linije so bile med seboj križane z namenom določitve kombinacijske sposobnosti ter vzgoje odpornih hibridov. Na odpornost na glivo *Exserohilum turcicum* (Pass.) K. J. Leonard & Suggs je bilo testiranih 108 linij in 128 populacij. Iz potomstva križancev med odpornimi in občutljivimi linijami je bilo v nadaljnjih generacijah s samooploditvijo vzgojenih več odpornih družin z mnogimi zelenimi agronomskimi lastnostmi, ki bodo služile za nadaljnjo selekcijo in križanje.

Ključne besede: *Exserohilum turcicum*, *Fusarium subglutinans*, genski material, koruza.

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF THE TOLERANCE OF MAIZE GENE BANK MATERIAL TO SOME FUNGI AND THE POSSIBILITIES OF ITS USE IN PLANT BREEDING

Quantity and quality of yield, which depend on the genetically inherited tolerance of a particular genotype to diseases and pests, are considered as the most important aims in majority of breeding programs. A successful breeding requires appropriate method and adequate genetic materials. For this reason, it is crucial to have reliable data about the existing germplasm. In order to evaluate the tolerance of maize germplasm to plant diseases and pests, systematic investigation was carried out at the Biotechnical Faculty, University of Ljubljana. In field conditions, based on the artificial infection by the fungus *Fusarium subglutinans* (Wollenw. & Reinking) P. E. Nelson, Toussoun & Marasas, we tested 82 inbreds and 80 populations. The most tolerant inbreds were intercrossed in order to find out their combining ability and to develop tolerant hybrids. We also tested the tolerance of 108 inbreds and 128 populations to the fungus *Exserohilum turcicum* (Pass.) K. J. Leonard & Suggs. The genetic recombination of the inbreds tolerant to NCLB with the inbreds which were not tolerant but were characterised by other desired agronomic traits, in the following generations, some tolerant progenies with good agronomic traits were developed.

¹ doc., dr. agr. znan., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

Key words: *Exserohilum turcicum*, *Fusarium subglutinans*, genetic material, maize.

1 UVOD

Koruzna progavost *Exserohilum turcicum* (Pass.) K. J. Leonard et E. G. Suggs ter glive iz rodu *Fusarium* so v svetu in pri nas najnevarnejše koruzne bolezni (Fischer in sod., 1976; Welz in Geiger, 2000; Pratt in sod., 1993; Munkvold in sod., 1997). Koruzna progavost povzroča predčasno sušenje listov in cele rastline, kar povzroči prisilno dozorevanje in posledično nižje pridelke, medtem ko fuzarioze na stebelu povzročajo lom in poleganje, na storžu pa izločajo škodljive mikotoksine (Munkvold in sod., 1997). Ker je žlahtnjenje odpornih kultivarjev kmetijskih rastlin eden od najučinkovitejših ukrepov proti boleznim in škodljivcem, si žlahtnitelji prizadevajo vzgojiti kultivarje z dobro genetsko odpornostjo. Uspeh žlahtnjenja je v največji meri odvisen od razpoložljivega genskega materiala, zato na Oddelku za agronomijo Biotehniške fakultete v Ljubljani že več let sistematično proučujemo odpornost genotipov koruze iz genske banke na najpomembnejše bolezni (Rozman in sod., 1998a; 1998b; Rozman in sod., 1989; Modic in Rozman, 2002, Rozman in Kragl, 2003). Namen prispevka je podati pregled dosedanjega dela in rezultatov ter proučitev možnosti vključevanja odpornih genotipov v nadaljnje žlahtnjenje.

2 MATERIAL IN METODE

V proučevanje smo vključili linije in populacije koruze iz genske banke koruze Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete v Ljubljani (Rozman, 1998).

Za preizkušanje odpornosti na glivo *Fusarium subglutinans* (Wollenweb. et Reink.) P. E. Nelson, T. A. Toussoun et Marasas, ki je v Sloveniji najpogostejša (Milevoj, 1981; Milevoj, 1996) smo izvedli poljske poskuse z umetnim okuževanjem na poskusnem polju Centra za razvoj kmetijstva in podeželja v Jablah pri Mengšu. Za okuževanje smo uporabili veterinarsko injekcijsko pištolo z injekcijsko iglo premera 1,8 mm ter vbrizgali v steblo oziroma storž koruze 1 ml suspenzije omenjene glive. Steblo smo inficirali v času metličjenja tako, da smo na sredini drugega spodnjega internodija z omenjeno pištolo vbrizgali 1 ml suspenzije preučevane glive. Storž pa smo okuževali v času 10 dni po opravitvi skozi ličje v sredino storža. Stopnjo okuženosti stebela smo ocenjevali ob spravi vizuelno po skali 0-6 (odporna-občutljiva), stopnjo okuženosti storžev pa v odstotkih okuženega storža po skali 0-9 (odporna-občutljiva).

Zaradi izolacije od drugih posevkov in morebitne večje okužbe s koruzno progavostjo smo poskus z umetno okužbo z glivo *Exserohilum turcicum* izvedli na poskusnem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani na ločeni parceli od ostalih posevkov in poskusov s koruzo. Za okuževanje smo uporabili izredno občutljiv hibrid koruze Minnesota 706. Poskus smo razdelili na dva pasova, med katerima smo vzdolž posejali hibrid Minnesota 706, ki smo ga v dveh rokih umetno okužili s suspenzijo spor (Špehar in Palaveršič, 1969) in je služil kot žarišče trosov. Prvo okužbo smo izvedli v fazi 6-7 listov, drugo pa po 7.-10. dneh v tulec razvijajočih se listov koruze. Okuženost smo ocenjevali po skali 0-10 (odporna-občutljiva) v dveh rokih (po cvetenju ter pred zrelostjo).

3 REZULTATI Z DISKUSIJO

Žlahtnitelj ima v procesu vzgoje novih sort na voljo dve osnovni metodi žlahtnjenja in sicer (1) s križanjem različnih sort ali pa (2) z odbiro oz. selekcijo izbrank, odvisno predvsem od tega, kakšen genetski material ima na voljo in kakšen je končni cilj žlahtnjenja. V naše proučevanje sta vključeni dve skupini genotipov (1) populacije s širšo genetsko strukturo in (2) bolj ali manj homozigotne samooplodne linije z ožjo genetsko

strukturo. Pri koruzi, kjer se za širšo pridelavo vzgajajo večinoma hibridi F1 generacije, z medsebojnim križanjem homozigotnih samooplodnih linij, je primarni cilj vzgojiti linije z dobro kombinacijsko sposobnostjo na gospodarsko pomembne lastnosti, med katere spada tudi odpornost na pomembnejše patogene. Odporne linije lahko koristimo direktno za vzgojo novih odpornih sort s križanjem, medtem ko populacije služijo kot vir genske raznolikosti, iz katerih s testiranjem z umetno okužbo, nadaljnjo odbiro in samooplodnjo odpornih genotipov v nadaljnjih generacijah, dobimo izenačene homozigotne in odporne samooplodne linije, ki jih rabimo kot roditelje za vzgojo križancev. Z medsebojnim križanjem več visokoselekcioniranih linij z različnimi dobrimi lastnostmi pa lahko vzgojimo tudi nove umetne populacije, iz katerih potem s povratnim križanjem ali samooploditvijo pridobimo nove linije, v katerih je združenih več dobrih lastnosti.

V letih 1997-2002 smo na odpornost na glivo *Fusarium subglutinans* testirali 82 linij in 80 populacij (pregl. 1). Rezultati testiranja so nam potrdili domnevo, da se v naši genski banki koruze nahajajo tudi genotipi, odporni na proučevano glivo. Od vseh preizkušanih se je 25 populacij izkazalo kot odpornih, s povprečno oceno okuženosti manj kot 3. Vse rastline testiranih populacij so bile ročno samooplojene, seme pa je shranjeno za nadaljnje preizkušanje, samooplodnjo in vzgojo novih linij. Iz 16 najbolj odpornih linij je bilo z namenom preizkušanja, po metodiki križanja nepopolnega dialela, vzgojenih 55 novih križancev, katerim bomo v naslednjih letih preizkusili kombinacijsko sposobnost na odpornost in pridelek.

Preglednica 1: Število preizkušanih linij in populacij koruze iz genske banke.

Table 1: Number of investigated inbreds and populations of the maize gene bank.

Leto Year	<i>Exserohilum turcicum</i>		<i>Fusarium subglutinans</i>	
	Linije Inbreds	Populacije Populations	Linije Inbreds	Populacije Populations
1997	14	14	14	14
1998	12	13	12	12
1999	98	119	14	14
2000	10	9	14	13
2001			14	13
2002			14	14
Skupaj	134	155	82	80

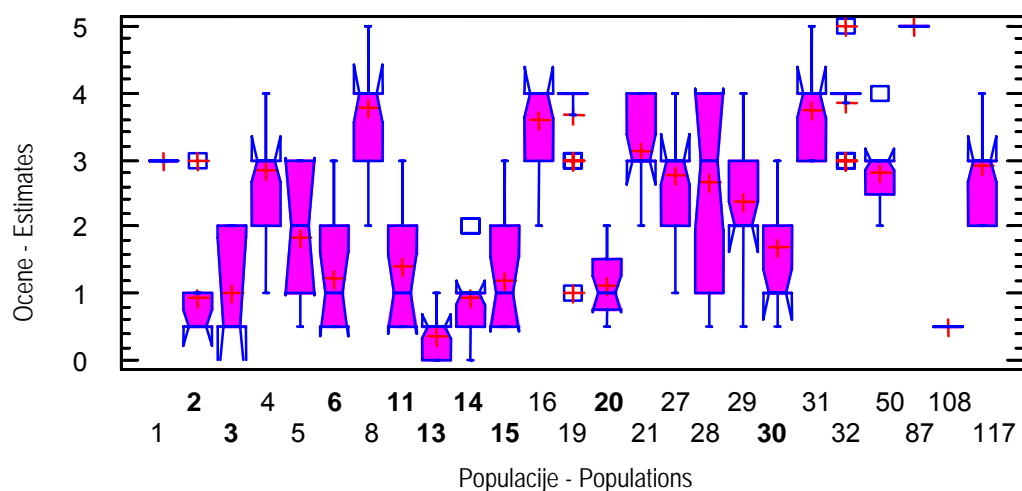
Na odpornost na koruzno progavost je bilo testiranih 134 linij in 155 populacij. S statistično analizo s pomočjo Kruskal-Walissovega testa smo ugotovili, da so nekatere populacije in linije statistično značilno odpornejše. V pregl. 2, kjer je prikazan del proučevanih linij, so odporne linije na začetku ranžirne vrste (zap. št. 1-15), občutljive pa na koncu ranžirne vrste (84-98). Odpornost nekaterih domačih linij in populacij je prikazana tudi v slikah 1 in 2.

Z namenom vzgoje odpornih linij, ki bi hkrati imele dobre gospodarske lastnosti (pridelek, ranost, čvrstost stebela, ...) smo vzgojili križance odpornih linij z linijami z dobrimi ostalimi gospodarsko pomembnimi lastnostmi. S samooploditvijo in selekcijo odpornih rastlin smo začeli v l. 2000 v F2 generaciji. Vsako nadaljnje leto smo odbrali samo najbolj odporne rastline, ki so, predhodno samooplojene, v naslednjem letu predstavljale njihovo potomstvo (družine). Samo na podlagi enega križanca smo po petih generacijah samooploditve (S5 v l. 2004) dobili 52 družin z R oz. RS rastlinami (pregl. 3).

Preglednica 2: Ranžirna vrsta linij glede na odpornost na koruzno progavost (*Exserohilum turcicum*).

Table 2: Inbreds classified according to range of tolerance to NCLB (*Exserohilum turcicum*).

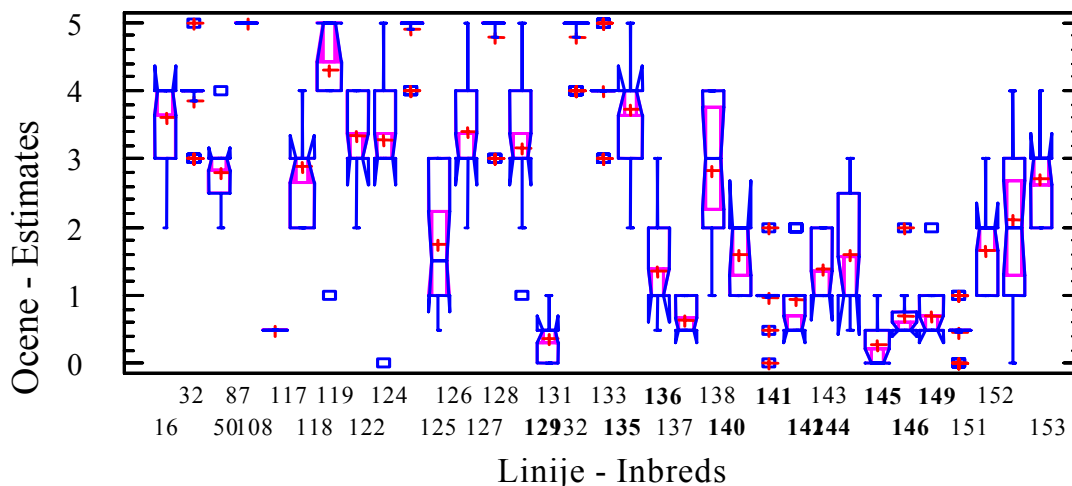
Zapor. št. Order numb.	Linija Inbreds	Metličenje Tasseling	Ranžirna vrsta Range order
1.	144	60	65,2
2.	154	55	78,1
3.	129	59	89,1
4.	108-St. +	55	100,0
5.	149	57	101,6
6.	180	57	107,5
7.	136	54	137,5
8.	203	58	138,4
9.	206	63	145,0
10.	145	54	145,1
11.	146	58	148,1
12.	141	52	196,9
13.	140	47	226,8
14.	135	60	294,1
15.	142	58	301,6
...
84.	124	55	1343,1
85.	223	56	1359,1
86.	87-St. -	52	1381,5
87.	130	-	1381,5
88.	176	55	1381,5
89.	189	53	1381,5
...
96.	215	58	1381,5
97.	217	63	1381,5
98.	220	54	1381,5



Slika 1: Odpornost nekaterih domačih populacij koruze na koruzno progavost (*Exserohilum turcicum*).

Figure 1: Tolerance of some domestic maize populations to NCLB (*Exserohilum turcicum*).

Nekatere od teh so že zelo izenačene in bodo z ostalimi v naslednjih letih še naprej selekcionirane. V generacijah samooploditve smo namenili več pozornosti tudi tipu odpornosti, saj se je izkazalo, da je v Sloveniji zastopana tudi rasa 2 glive *Exserohilum turcicum*. Na istih rastlinah nekaterih družin so se namreč pojavili tako znaki odpornosti (R tip) kot tudi znaki občutljivosti (S tip) na to glivo, kar pomeni, da je rastlina odporna na raso 1, medtem ko je na raso 2 občutljiva.



Slika 2: Odpornost nekaterih domačih linij koruze na koruzno progavost (*Exserohilum turcicum*).
Figure 2: Tolerance of some domestic inbreds to NCLB (*Exserohilum turcicum*).

Preglednica 3: Učinek selekcije po 5 generacijah samooplodnje (S5) in selekcije odpornih družin na glivo *Exserohilum turcicum*, na podlagi umetnega okuževanja v naravnih razmerah.

Table 3: Effect of selection after 5 selfing generations and selection of tolerant families to NCLB on the base of artificial selection in field conditions.

Leto Year	Generacija Generation	Skupno število testiranih družin Total number of investigated families	Število družin z R/RS rastlinami Number of families with R/RS plants	Skupno število samooplojenih družin Number of selfed families	Število samooploj. družin z R/RS rastlinami Number of selfed R/RS families
2000	F2 (S1)	100	64	91	64
2001	F3 (S2)	273	188	91	74
2002	F4 (S3)	88	56	57	40
2003	F5 (S4)	60	34	58	29
2004	F6 (S5)	76	59	74	52

4 SKLEPI

Čprav je preizkušeno manj kot polovica od skupno več kot 520 genotipov koruze, ki so hranjeni v naši genski banki, smo ugotovili sorazmerno veliko število odpornih genotipov, zato se bodo proučevanja nadaljevala v smeri preizkušanja še ostalega genskega materiala. Nadaljevali bomo tudi s preizkušanjem delno že ugotovljenega odpornega genskega materiala, predvsem pri linijah bo potrebno s križanjem ugotoviti kombinacijsko sposobnost v hibridnih kombinacijah. Posebno pozornost bo potrebno nameniti tudi odpornosti na raso 2 glive, saj nekatere ugotovitve kažejo, da je proučevan genski material vseboval nekatere genotipe, odporne tudi na raso 2.

5 LITERATURA

- Fischer, D.E., Hooker, A.L., Lim, S.M., Smith, D.R. 1976. Leaf infection and yield loss caused by four *Helminthosporium* leaf diseases of corn. *Phytopathology* 66: 942-944.
- Milevoj, L. 1981. Proučevanje odpornosti stebel in storžev pri nekaterih hibridih koruze proti glivam *Fusarium* spp. v razmerah umetnih infekcij. *Sod. kmetijstvo*, št. 11: 435-439.
- Milevoj, L. 1996. Večletna proučevanja fuzarioz (*Fusarium* spp.) pri koruzi. Zbornik simpozija "Novi izzivi v poljedelstvu", Radenci 1996, 267-271.
- Modic, T., Rozman, L. 2002. Proučevanje odpornosti domačih populacij koruze (*Zea mays* L.) na koruzno progavost (*Exserohilum turcicum* /Pass./ K.J. Leonard et E.G. Suggs). *Zb. Bioteh. fak. Univ. Ljubl., Kmet.* (1990), 2002, 79, 1: 143-158.
- Munkvold, G.P., Hellmich, R.L., Showers, W.B. 1997. Reduced *Fusarium* ear rot and symptomless infection in kernels of maize genetically engineered for European corn borer resistance. *Phytopathology* 87: 1071-1077.
- Pratt, R.C., Adipala, E., Lipps, P.E. 1993. Characterization of Race-Nonspecific Resistance to *Exserohilum turcicum* Races 0 and 1 in Maize OhS10 S₁ Progenies. *Plant Disease*, 77, 12 : 1227-1232.
- Rozman, L. 1998. Genska banka koruze. *Sod. kmetijstvo*, 31, 2: 71-73.
- Rozman, L., Kragl, M. 2003. Proučevanje odpornosti domačih linij (*Zea mays* L.) na koruzno progavost (*Exserohilum turcicum* /Pass./ K. J. Leonard et E. G. Suggs). *Zb. Bioteh. fak. Univ. Ljubl., Kmet.*, 2003, 81, 1: 25-38.
- Rozman, L., Milevoj, L., Celar, F., Valič, N. 1998a. Proučevanje odpornosti domačih linij in populacij koruze na glivične bolezni. Zbornik simpozija »Novi izzivi v poljedelstvu«, Dobrna 1998: 219-224.
- Rozman, L., Milevoj, L., Celar, F., Valič, N., Kocjan-Ačko, D. 1998b. Tolerantnost domačega genskega materiala na nekatere patogene. Letno poročilo o rezultatih raziskovalnega projekta v l. 1997. Ljubljana, 1 zv.
- Rozman, L., Milevoj, L., Celar, F., Valič, N., Kocjan-Ačko, D. 1999. Tolerantnost domačega genskega materiala na nekatere patogene. Letno poročilo o rezultatih raziskovalnega projekta v l. 1998. Ljubljana, 1 zv.
- Rozman, L. 2002. Tolerantnost priporočenih hibridov koruze v Sloveniji na koruzno progavost (*Exserohilum turcicum* /Pass./ K. J. Leonard et E. G. Suggs). Zbornik simpozija »Novi izzivi v poljedelstvu« Zreče, 2002: 83-86.
- Špehar, V., Palaveršič, D. 1969. Ispitivanje odpornosti kukuruza prema *Helminthosporium turcicum* Pass. *Savremena poljoprivreda*, 5-6: 463-468.
- Welz, H.G., Geiger, H.H. 2000. Genes for resistance to northern corn leaf blight in diverse maize populations. *Plant breeding*, 119: 1-14.