

1 **Gatunek rośliny, której dotyczy sprawozdanie:** *Lupinus luteus* L., *Lupinus angustifolius* L.

2
3 **Autor/autorzy:** WOJCIECH ŚWIĘCICKI¹, MAGDALENA KROC¹, PAWEŁ BARZYK²,
4 KATARZYNA CZEPIEL¹, PAULINA WILCZURA/PATRYCJA BIELECKA¹.

5 **Afiliacja:** ¹Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, ²Poznańska Hodowla Roślin Tulce

6 **Adres korespondencyjny, adres e-mail i nr telefonu** Kierownika Tematu: ul. Strzeszyńska 34,
7 60-479 Poznań; wswi@igr.poznan.pl; 61-6550291.

8 **Informacja o dotacji:** Prace zostały wykonane w ramach badań podstawowych na rzecz postępu
9 biologicznego w produkcji roślinnej na podstawie decyzji HOR.hn.802.2.2019, Zadanie nr 41.

10
11 **Tytuł zadania w języku polskim:** Identyfikacja i sposób dziedziczenia genów warunkujących
12 odporność na choroby grzybowe i niską zawartość alkaloidów w doskonaleniu wartości użytkowej
13 łubinów, ze szczególnym uwzględnieniem łubinu żółtego.

14 **Tytuł zadania w języku angielskim:** Identification and mode of inheritance of genes underlying
15 fungal disease resistance and low alkaloid content in lupins improvement, with particular attention
16 to yellow lupin.

17
18 **Słowa kluczowe:** łubin, alkaloidy, *Fusarium*, antraknoza

19
20 **CEL:**

- 21 1. Testowanie genów kandydatów, w celu wytypowania genów zaangażowanych w odporność na
22 wędnięcie fuzaryjne.
- 23 2. Połączenie niskiej zawartości alkaloidów z odpornością na patogeny grzybowe (*Colletotrichum*
24 *lupini* i *Fusarium sp.*) w zróżnicowanym podłożu genotypowym o dużej wartości użytkowej

25
26 **OPIS WYNIKÓW:**

27 Ad 1.

28 W ramach tegorocznych badań na podstawie analizy ekspresji różnicowej, adnotacji
29 funkcjonalnej genów oraz dostępnej literatury wybrano 6 genów kandydackich, których ekspresję
30 analizowano z zastosowaniem metody qPCR. Wybrano geny związane z metabolizmem ściany
31 komórkowej, a także geny uczestniczące w syntezie i akumulacji alkaloidów. Ściana komórkowa
32 zapewnia fizyczną barierę zabezpieczającą przed infekcją patogenów, ale także uczestniczy
33 w rozpoznaniu patogenów prowadzącym do aktywacji procesów odpornościowych. Alkaloidy
34 łubinowe pełnią natomiast funkcję ochrony chemicznej przeciw patogenom (wirusowym,
35 bakteryjnym i grzybowym) i szkodnikom. W przypadku genów związanych z metabolizmem ściany
36 komórkowej wykazano, że po porażeniu fuzariozą następuje znaczny spadek ekspresji u linii
37 podatnych, natomiast u linii odpornych ekspresja zmienia się nieznacznie (niewielki wzrost
38 ekspresji). Analiza ekspresji wybranych genów szlaku syntezy alkaloidów w badanym materiale
39 łubinu żółtego wykazała, że u linii podatnych obserwowany jest znaczny spadek ekspresji,
40 natomiast u linii podatnych ekspresja ulega zmianie w bardzo niewielkim stopniu (niewielki spadek

41 ekspresji). Porównując natomiast poziom ekspresji u linii odpornych (względem linii podatnych)
42 obserwowany w warunkach kontrolnych oraz po porażeniu, w przypadku wszystkich genów
43 badanych zaobserwowano znacznie wyższą ekspresję po porażeniu. Uzyskane wyniki wskazują, że
44 wybrane geny kandydackie mogą przyczyniać się do zwiększonej przeżywalności roślin w czasie
45 porażenia *Fusarium* spp. Prezentowane wyniki mogą stanowić punkt wyjściowy do dalszego
46 zrozumienia interakcji patogen grzybowy - ściana komórkowa rośliny, a także korzystnej roli
47 alkaloidów w czasie procesu infekcji *Fusarium* spp.

48 Ad 2.

49 - Uzyskano 9 nowych kombinacji mieszańcowych łubinu wąskolistnego i żółtego, łączących
50 genotypy odmian uprawnych ze źródłami odporności przeciwko wędnięciu fuzaryjnemu
51 i antraknozie: W-658 (W-350 × Samba), W-660 (W-411 × Samba), W-662 (W-411 × Wars), W-705
52 (W-417 × Rumba), Z-811 (Z-563 × Perkoz), Z-812 (Z-563 × Bursztyn), Z-824 (Z-687 × Bursztyn),
53 Z-825 (Z-687 × Perkoz), Z-753 (Z-525 × Baryt).

54 - Przetestowano 20 obiektów łubinu wąskolistnego (tab. 1) oraz 40 obiektów łubinu żółtego (tab. 1)
55 pod względem odporności na *Fusarium* sp.. Presja selekcyjna była bardzo silna i pomimo tego
56 najlepsze obiekty w obu gatunkach były porażone słabiej od wzorców odporności. Oznacza to, że są
57 cennym materiałem i mogą być źródłem genetycznej odporności dla form uprawnych. Są to W-470,
58 Z-626, Z-666, Z-622, Z-654, Z-625 (tab. 1).

59 - Przetestowano 40 obiektów łubinu żółtego pod względem odporności na antraknozę w warunkach
60 polowych. Porażenie rozwinęło się w typowym terminie – w stadium kwitnienia – i było skupione
61 na łodygach bocznych i strąkach, i miało ogólnie średni poziom. Duża część roślin została
62 wyeliminowana przez wędnięcie fuzaryjne. Stan obiektów wzorcowych potwierdził prawidłowy
63 przebiegu testu. Wyniki obserwacji umożliwiły wykonanie selekcji i wskazanie obiektów
64 mogących posiadać odporność genetyczną: Z-773, Z-760, Z-746 (tab. 2). Ze względu na dość
65 wczesne pokolenie (F3) przetestowanych kombinacji mieszańcowych, wskazane jest potwierdzenie
66 wyników w dodatkowych testach.

67 - Przetestowano 40 obiektów łubinu żółtego pod względem odporności na antraknozę w warunkach
68 szklarniowych. Ocena porażenia ujawniła szeroki zakres zmienność poziomu odporności od 3,79 do
69 8,71 stopnia, w skali 0-9 (tab. 2). Porównanie z wynikami testu polowego uwidacznia, że presja
70 selekcyjna w warunkach polowych była słabsza i niektóre obiekty stosunkowo słabo porażone w
71 polu w warunkach kontrolowanych ulegają wyraźnie silniejszemu porażeniu (szczególnie Z-760).
72 Wysoka pozycja wzorca odporności potwierdza prawidłowy przebieg testu, a obecność grupy
73 obiektów lepszych od niego dowodzi skuteczności procedury badawczej. Pięć badanych obiektów

74 (Z-731, Z-723, Z-686E, Z-736, Z-744) wykazało się średnim porażeniem, statystycznie istotnym,
75 słabszym od wzorca Mister. Obiekty te są potencjalnym źródłem odporności dla hodowli
76 odpornościowej (tab. 2).

77

78 WNIOSKI Z PROWADZONYCH BADAŃ:

- 79 **1.** Zaobserwowany poziom ekspresji genów badanych może przemawiać za ich zaangażowaniem
80 w odpowiedź rośliny na porażenie *Fusarium* spp., poprzez wpływ na zdolność linii do
81 ograniczenia wzrostu i rozwoju patogena. Zaangażowanie genów uczestniczących w różnych
82 mechanizmach odpornościowych może wskazywać, że odporność na wędnięcie fuzaryjne
83 u łubinu żółtego warunkowana jest wielogenowo
- 84 **2.** Genotypy o bardzo wysokiej odporności na wędnięcie fuzaryjne są nieliczne w łubinie
85 wąskolistnym, jednak test na polu fuzarialnym pozwala na ich wyodrębnienie spośród badanych
86 materiałów. W roku 2019 znaleziono 8 genotypów o wysokim poziomie odporności, w tym
87 jeden o szczególnie wysokim, wzorcowym poziomie odporności – z pewnością mogący być
88 źródłem tej odporności.
- 89 **3.** W łubinie żółtym przeciętny poziom odporności przeciwko wędnięciu fuzaryjnemu jest dość
90 wysoki, w porównaniu z łubinem wąskolistnym. Liczba obiektów posiadających geny
91 odporności jest również większa, co utrudnia wyodrębnienie najlepszych genotypów, jednak
92 nadal jest możliwe ulepszanie tej odporności. W sezonie wegetacyjnym 2019 udało się znaleźć
93 5 obiektów przewyższających wzorzec odporności, które mogą być źródłem genetycznej
94 odporności na najwyższym poziomie.
- 95 **4.** Znalezienie genetycznej odporności na antraknozę jest trudne i wymaga zbadania materiałów
96 w różnych warunkach i stadiach wegetacji. Kompleksowa ocena za pomocą testów polowych
97 i szklarniowych pozwoliła w roku 2019 wskazać przynajmniej 5 obiektów o wysokiej
98 odporności. Jeden z tych obiektów można uznać za potencjalne źródło genetycznej odporności
99 przeciwko antraknozie ze względu na bardzo dobry wynik w obu typach przeprowadzanych
100 doświadczeń.
- 101 **5.** Uzyskanie stabilnych genotypów, łączących odporność na *Fusarium* sp., *Colletotrichum lupini*
102 i niską zawartość alkaloidów, wymaga dalszych testów i selekcji potomstwa wybranych
103 kombinacji mieszańcowych.

104

105

106

107

108

109

Tabela 1. Przeżycie roślin łąbinu wąskolistnego i żółtego na polu fuzarialnym (2019)

gatunek	nazwa obiektu	Średnio przeżycie w stadium dojrzwania [%]
<i>L. angustifolius</i>	W-470	98,9
<i>L. angustifolius</i>	*Kalif	96,8
<i>L. angustifolius</i>	W-476	95,4
<i>L. angustifolius</i>	W-494	94,9
<i>L. angustifolius</i>	W-459	93,7
<i>L. angustifolius</i>	W-472	93,1
<i>L. angustifolius</i>	W-474	92,3
<i>L. angustifolius</i>	W-493	90,4
<i>L. angustifolius</i>	W-483	88,9
<i>L. angustifolius</i>	W-475	78,4
<i>L. angustifolius</i>	W-491	74,5
<i>L. angustifolius</i>	W-484	74,1
<i>L. angustifolius</i>	W-478	68,1
<i>L. angustifolius</i>	W-479	65,1
<i>L. angustifolius</i>	W-477	59,1
<i>L. angustifolius</i>	W-480	45,5
<i>L. angustifolius</i>	W-489	42,1
<i>L. angustifolius</i>	W-473	38,5
<i>L. angustifolius</i>	W-490	34,2
<i>L. angustifolius</i>	W-487	33,0
<i>L. angustifolius</i>	W-488	22,0
<i>L. angustifolius</i>	*Sonet	0,0
<i>L. luteus</i>	Z-626	100,00
<i>L. luteus</i>	Z-666	95,00
<i>L. luteus</i>	Z-622	93,75
<i>L. luteus</i>	Z-654	92,86
<i>L. luteus</i>	Z-625	92,86
<i>L. luteus</i>	*Lord	92,86
<i>L. luteus</i>	Z-665	88,89
<i>L. luteus</i>	Z-659	88,19
<i>L. luteus</i>	Z-645	87,50
<i>L. luteus</i>	Z-629	85,71
<i>L. luteus</i>	Z-620	85,71
<i>L. luteus</i>	Z-660	83,33
<i>L. luteus</i>	Z-637E	83,33
<i>L. luteus</i>	Z-652	82,86
<i>L. luteus</i>	Z-653	82,64
<i>L. luteus</i>	Z-662	81,94
<i>L. luteus</i>	Z-643	81,25
<i>L. luteus</i>	Z-634	80,36
<i>L. luteus</i>	Z-650	79,44
<i>L. luteus</i>	Z-641	78,57
<i>L. luteus</i>	Z-648	77,78
<i>L. luteus</i>	Z-658	73,89
<i>L. luteus</i>	Z-631	73,75
<i>L. luteus</i>	*Parys	72,22
<i>L. luteus</i>	Z-633	72,22
<i>L. luteus</i>	Z-635	70,83
<i>L. luteus</i>	Z-657	70,14
<i>L. luteus</i>	Z-651	66,67
<i>L. luteus</i>	Z-646	64,58
<i>L. luteus</i>	Z-642	63,49
<i>L. luteus</i>	Z-661	62,22
<i>L. luteus</i>	Z-628	60,71
<i>L. luteus</i>	Z-655	60,32
<i>L. luteus</i>	Z-627	57,14
<i>L. luteus</i>	Z-644	55,56
<i>L. luteus</i>	Z-649E	54,46
<i>L. luteus</i>	Z-640	52,78

<i>L. luteus</i>	Z-623	52,08
<i>L. luteus</i>	Z-636	45,83
<i>L. luteus</i>	Z-664	45,14
<i>L. luteus</i>	Z-647	30,56
<i>L. luteus</i>	Z-638	30,56

111
112
113
114

Tabela 2. Porażenie antraknozą siewek łubinu żółtego w doświadczeniu szklarniowym (2019) i zestawienie z rankingiem polowym

Lp.	obiekt	średnie porażenie	Grupy jednorodnie statystycznie	ranking polowy
1	Z-731	3,793	T	31
2	Z-723	4,433	S	12
3	Z-686E	4,969	R S	21
4	Teo	5,115	R	42, 43
5	Z-736	5,767	Q	40
6	Z-744	6,194	P Q	25
7	Z-725	6,433	O P	20
8	Z-738	6,433	O P	32
9	Z-724	6,536	N O P	16
10	Z-729	6,786	M N O	44
11	Mister	6,849	M N O	6, 17
12	Z-721	6,893	L M N O	23
13	Z-773	6,964	L M N O	1
14	Z-771	7,033	K L M N	19
15	Z-711	7,069	K L M N	29
16	Z-750	7,103	K L M N	36
17	Z-753	7,138	J K L M	7
18	Z-732	7,393	I J K L	41
19	Z-715	7,412	I J K L	4
20	Z-728	7,571	H I J K	34
21	Z-772	7,690	G H I J	15
22	Z-727	7,714	F G H I	35
23	Z-746	7,867	E F G H I	3
24	Z-743	7,903	E F G H I	30
25	Z-722	7,964	D E F G H I	27
26	Z-717	7,966	D E F G H	9
27	Z-767	7,967	D E F G H	26
28	Z-768	8,033	C D E F G H	18
29	Z-730	8,036	B C D E F G H	28
30	Z-713	8,148	A B C D E F G H	5
31	Z-754	8,200	A B C D E F G	8
32	Z-741	8,259	A B C D E F G	39
33	Z-747	8,267	A B C D E F	38
34	Z-764	8,276	A B C D E F	11
35	Z-760	8,300	A B C D E	2
36	Z-766	8,345	A B C D E	37
37	Z-761	8,467	A B C D	14
38	Z-737	8,483	A B C D	24
39	Z-755	8,533	A B C	22
40	Z-758	8,600	A B	33
41	Z-748	8,690	A	13
42	Z-749	8,714	A	10

115