

Streszczenie prac wykonanych i wyników otrzymanych w 2020 rok

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

Autor/autorzy: WOJCIECH ŚWIECICKI¹, MAGDALENA KROC¹, PAWEŁ BARZYK², KATARZYNA CZEPIEL¹, PAULINA WILCZURA/ALEKSANDRA BURDZIŃSKA¹.

Afilacja: ¹Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, ²Poznańska Hodowla Roślin Tulce

Adres korespondencyjny, adres e-mail i nr telefonu Kierownika Tematu: ul. Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań; wswi@igr.poznan.pl; 61-6550263.

Informacja o dotacji: Prace zostały wykonane w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w ramach zadania nr 41.

„Identyfikacja i sposób dziedziczenia genów warunkujących odporność na choroby grzybowe i niską zawartość alkaloidów w doskonaleniu wartości użytkowej łubinów, ze szczególnym uwzględnieniem łubinu żółtego”.

“Identification and mode of inheritance of genes underlying 14 fungal disease resistance and low alkaloid content in lupins improvement, with particular attention to yellow lupin”.

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

CEL:

1. Testowanie genów kandydackich wytypowanych dla łubinu żółtego w liniach łubinu wąskolistnego.
2. Lokalizacja homologów genów kandydackich wytypowanych dla łubinu żółtego w genomie łubinu wąskolistnego.
3. Połączenie niskiej zawartości alkaloidów z odpornością na patogeny grzybowe (*Colletotrichum lupini* i *Fusarium spp.*) w zróżnicowanym podłożu genotypowym o dużej wartości użytkowej.

OPIS WYNIKÓW:

Ad 1.

W roku bieżącym w celu bliższego poznania podłoża odporności/podatności na *Fusarium* u łubinu wąskolistnego, wykorzystano informacje uzyskane na podstawie analizy transkrytomów i badań ekspresji genów u łubinu żółtego. Zgodnie z założeniami zadania w obiektach łubinu wąskolistnego przeanalizowano ekspresję 5 genów kandydackich wytypowanych w latach ubiegłych, jako potencjalnie zaangażowanych w odporność na wędnięcie fuzaryjne u łubinu żółtego. Analizując profile ekspresji genów kandydackich, których adnotacja funkcjonalna sugerowała potencjalne uczestnictwo w procesach odpornościowych rośliny wykazano spadek ekspresji po porażeniu u linii podatnych oraz praktyczny brak zmiany ekspresji/nieznaczny wzrost ekspresji w przypadku linii odpornych. W przypadku genów potencjalnie związanych z podatnością roślin na porażenie fuzariozą wykazano znaczny wzrost ekspresji w liniach podatnych oraz praktycznie brak zmiany ekspresji u linii odpornych.

Ad 2.

W genomie łubinu wąskolistnego zidentyfikowano położenie 10 genów, homologów genów kandydackich wytypowanych w latach ubiegłych dla łubinu żółtego. Analizy prowadzono zarówno z wykorzystaniem mapy genetycznej, jak i dostępnej wersji sekwencji genomu.

Szczególnie interesująca jest identyfikacja połączenia na mapie genetycznej 2 markerów/genów, którym nie została przypisana jednoznaczna pozycja w obecnej, niepełnej wersji genomu (nieprzypisany scaffold). Dodatkowo wykazano, że trzy spośród analizowanych genów zlokalizowane są w grupie sprzężeń NLL-11, w której zlokalizowany jest również gen odporności na antraknozę, *Lanr1*. Identyfikacja markerów w sąsiedztwie genu *Lanr1* (NLL-11), może potwierdzać zaangażowanie tego regionu genomu w procesy odpornościowe rośliny. Szczegółowe badania dotyczące odporności na fuzariozę u łubinu wąskolistnego są niezbędne do dalszego poznania podłoża genetycznego odporności/podatności na *Fusarium spp.*

Ad3.

- Zbadano zawartość ogólną i skład jakościowy alkaloidów 80 prób nasion łubinu żółtego i wąskolistnego. W znacznej części u obu gatunków wykazano zawartość ogólną alkaloidów na poziomie tysięcznych części procenta, co świadczy o dużej skuteczności prowadzonej selekcji i wskazuje na możliwość dalszego obniżenia poziomu alkaloidów w nasionach.

- Uzyskano 9 nowych kombinacji mieszańcowych łubinu wąskolistnego i żółtego, łączących genotypy odmian uprawnych ze źródłami odporności przeciwko więdnieniu fuzaryjnemu i antraknozie: W-711 (W-470 × Roland), W-713 (W-470 × Swing), W-719 (W-417 × Roland), W-723 (W-350 × Roland), Z-855 (Z-566 × Goldeneye), Z-856 (Z-566 × Perkoz), Z-857 (Z-715 × Bursztyn), Z-858 (Z-715 × Baryt), Z-859 (Z-715 × Goldeneye).

- Przetestowano 20 obiektów łubinu wąskolistnego oraz 40 obiektów łubinu żółtego pod względem odporności na *Fusarium sp.* W przypadku łubinu wąskolistnego wzorzec podatności był zdecydowanie najbardziej podatnym obiektem w całym teście, z dużym dystansem do innych obiektów, co potwierdza dużą siłę presji selekcyjnej na polu fuzarialnym. W doświadczeniu na polu fuzarialnym z łubinem żółtym presja selekcyjna była silna, choć nieco słabsza niż na polu z łubinem wąskolistnym. Większość badanych obiektów wykazała się dobrym lub bardzo dobrym poziomem odporności. Jeden obiekt łubinu wąskolistnego wykazał wyższą odporność od wzorca odporności, natomiast wyższy średni poziom przeżywalności na polu fuzarialnym w stosunku do wzorca odporności wykazano aż dla 16 obiektów testowych łubinu żółtego. Oznacza to, że są to cenne materiały, które mogą być źródłem genetycznej odporności dla form uprawnych.

- Przetestowano 40 obiektów łubinu żółtego pod względem odporności na antraknozę w warunkach polowych. Infekcja i rozwój porażenia nastąpiły dość późno, pod koniec stadium kwitnienia. Ogólnie dla całego doświadczenia poziom porażenia antraknozą był dość niski. Objawy porażenia skupione były głównie na łodygach bocznych i strąkach. Spośród badanego materiału testowego 12 obiektów wykazało się bardzo słabym porażeniem w warunkach polowych, lub jego całkowitym brakiem, i z największym prawdopodobieństwem posiadają genetyczną odporność na antraknozę (Z-708, Z-710, Z-756E, Z-759E, Z-798, Z-769, Z-709, Z-794, Z-769E).

- Przetestowano 40 obiektów łubinu żółtego pod względem odporności na antraknozę w warunkach szklarniowych. Ocena porażenia ujawniła zmienność średniego poziomu odporności w zakresie od 6,54 do 8,8 stopnia, w skali 0-9. Porównanie z wynikami testu polowego uwidacznia, że presja selekcyjna w warunkach polowych była słabsza i niektóre obiekty stosunkowo słabo porażone w polu w warunkach kontrolowanych ulegają wyraźnie silniejszemu porażeniu (szczególnie Z-764E, Z-708, Z-756E). Wyniki uzyskane w roku 2020 pozwalają wskazać pięć potencjalnych źródeł odporności (Z-780, Z-797, Z-796, Z-776, Z-777) ze względu na bardzo dobre wyniki w warunkach kontrolowanych. Obiekty te można z

pewnością określić jako formy „odporne” i wskazać jako potencjalne źródła genetycznej odporności. Należy jednak wziąć pod uwagę, że są to linie mieszańcowe dość wczesnego pokolenia F3, a zatem dalsze wykorzystanie ich wymaga wyprowadzenia ustabilizowanych genotypów o wyższym poziomie homozygotyczności i potwierdzenia odporności w dodatkowych testach.

WNIOSKI Z PROWADZONYCH BADAŃ:

1. Zaobserwowany poziom ekspresji badanych genów może przemawiać za ich zaangażowaniem w odpowiedź rośliny na porażenie *Fusarium* spp., poprzez np. wpływ na zdolność linii do ograniczenia wzrostu i rozwoju patogena lub podwyższenie podatności na infekcję *Fusarium* spp.
2. Prezentowane wyniki stanowią pierwszy etap badań dotyczących odporności na fuzariozę u łubinu wąskolistnego i stanowią punkt wyjściowy do dalszego zrozumienia molekularnego podłoża odporności na wędnięcie fuzaryjne u tego gatunku.
3. W analizowanych próbach nasion obu gatunków łubinu wykazano bardzo niską zawartość alkaloidów – na poziomie tysięcznych części procenta, czyli ilość praktycznie bez znaczenia z żywieniowego punktu widzenia. Świadczy to właściwym kierunku, a nawet niewątpliwym sukcesie realizowanych programów hodowlanych.
4. Test łubinu wąskolistnego na polu fuzarialnym pozwala na bardzo skuteczną selekcję materiałów pod względem odporności i wyodrębnienie najlepszych źródeł genetycznej odporności. W roku 2020 znaleziono 8 genotypów o bardzo wysokim poziomie odporności, w tym 2 o wzorcowym poziomie, który może być źródłem odporności przeciwko *Fusarium* spp.
5. W łubinie żółtym przeciętny poziom odporności przeciwko wędnięciu fuzaryjnemu jest dość wysoki, w porównaniu z łubinem wąskolistnym, i wyodrębnienie najlepszych genotypów jest trudne, jednak nadal jest to możliwe. Można nawet stwierdzić, że jest potencjał do ulepszania tej odporności. W sezonie wegetacyjnym 2020 udało się znaleźć aż 16 obiektów przewyższających wzorzec odporności. Najlepsze 9 obiektów może być z pewnością źródłem genetycznej odporności przeciwko *Fusarium* spp.
6. Znalezienie genetycznej odporności na antraknozę jest trudne i wymaga zbadania materiałów w różnych warunkach i stadiach wegetacji. Kompleksowa ocena za pomocą testów polowych i szklarniowych pozwoliła w roku 2020 wskazać przynajmniej 5 obiektów o wysokiej odporności. Wyniki świadczą o tym, że zastosowana procedura badawcza skutecznie przyczynia się do postępu w hodowli odpornościowej.
7. Uzyskanie stabilnych genotypów, łączących odporność na *Fusarium* sp., *Colletotrichum lupini* i niską zawartość alkaloidów, wymaga dalszych testów i selekcji potomstwa wybranych kombinacji mieszańcowych.