

## РЕАКЦИЯ НА РАЗЛИЧНИ ГЕНОТИПОВЕ ЕЧЕМИК КЪМ ТРИ ВИДА *FUSARIUM*, ПРИЧИНИТЕЛИ НА ФУЗАРИОЗА ПО КЛАСА

Ваня Иванова, Галина Михова

Добруджански Земеделски Институт – Генерал Тошево

### Резюме

През периода 2007-2009 година в Добруджански земеделски институт – Генерал Тошево са оценени 21 генотипа ечемик за устойчивост към три вида *Fusarium* (*F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum*), причиняващи фузариоза по класа. Установено е, че *F. avenaceum* е най-агресивният от проучените видове *Fusarium* и всички изпитани генотипове са високо чувствителни към този вид. Спрямо другите два вида *F. graminearum* и *F. culmorum* генотиповете са групирани по клас на устойчивост и е установено, че те носят такава, както поотделно към всеки един от тях, така и към двата заедно. Тези генотипове са подходящи за използване в селекционните програми като източници на устойчивост към това заболяване.

**Ключови думи:** ечемик, устойчивост, *Fusarium*

### Abstract

*Ivanova, V., Mihova, G., 2013. Response of different barley genotypes to three types of Fusarium causing fusariosis on the spike.*

During 2007-2009, at Dobrudzha Agricultural Institute, twenty-one barley genotypes were evaluated for resistance to three types of *Fusarium* (*F. graminearum*, *F. culmorum*, and *F. avenaceum*) which cause fusarium head blight. It was found that *F. avenaceum* was the most aggressive *Fusarium* type among the three types investigated and all tested genotypes were highly susceptible to it. According to the other two types, *F. graminearum* and *F. culmorum*, the genotypes were grouped by their degree of resistance; it was established that the genotypes possessed resistance to both types, as well as to each one separately. These genotypes are suitable for involving in breeding programs as sources for resistance to the disease.

**Key words:** barley, resistance, *Fusarium* Head Blight

### УВОД

Ечемикът е една от важните зърнено-житни култури и намира широко приложение както в пивоварната промишленост, така и като фураж в животновъдството. Ечемикът се напада от редица гъбни болести, които снижават добивите и заедно с това влошават качеството на зърното (Cosic et al., 2007; Dvojčovic et al., 2007; Kerekes, 2004; Sip et al., 2004; Wisniewska et al., 2004). Една такава болест е фузариозата по класа, причинена от видове, спадащи към род *Fusarium*. Bennett (1928) е установил, че загубите при нападение по класа от *F. culmorum* и *F. avenaceum* варират между 50-70%. Някои автори посочват, че гъбите от род *Fusarium* имат способността да образуват токсични метаболити с широк спектър на патологично действие върху човешкия и животински организъм (Bargisio, 1992; Caloni &

Cortinovis, 2010; Chelkowski, 1989; Chrпова et al, 2011; Ueno, 1983; Sip et al., 2004; Wagacha & Mutchomi, 2007).

Съществуват различни методи за контрол на инфекцията, но повечето от тях са с недостатъчна ефективност (Husti, 2006). Радикален метод за борба с този патоген остава създаването и отглеждането на устойчиви сортове. Проблемите в селекцията на устойчивост са свързани с ограничения брой подходящи източници за подобряване на устойчивостта, както и ефективни методи за скрининг. Много от използваните като донори генотипове се характеризират с неблагоприятна комбинация от биологични и стопански признаци (Kosova et al., 2009; Steffenson & Smith, 2006). Повечето източници на устойчивост към FHB са с пролетен тип на развитие и това силно ограничава използването им в селекционно-подобрителната работа. Това налага да се търсят възможности за комбинирането на различни признаци с цел ограничаване разпространението на инфекцията (Mesfin et al., 2003; Rudd et al., 2001; Zhu et al., 1999).

Изследванията върху фузариозата по класа при ечемика у нас са оскъдни (Valcheva & Valchev, 2007). Незначителни са и данните за реакцията на масово районираните сортове към тези патогени (Valcheva & Valchev, 2009; Valchev & Valcheva, 2010; Valchev & Gocheva, 2010).

Целта на изследването е да се установи реакцията на линии зимен фуражен и пивоварен ечемик към основните за България видове причиняващи фузариоза по класа – *F. graminearum*, *F. culmorum* и *F. avenaceum*.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследването е проведено в Добруджански Земеделски Институт през периода 2007-2009 година. Обект на проучване са 21 генотипа зимен ечемик (Таблица 1). Като стандарти при пивоварния ечемик са подбрани сортовете Обзор и Каскадьор 3, а сорт Веслец е стандарт при фуражните форми. Селекционните линии са разработени по програмата за повишаване на

Таблица 1. Работна колекция от зимен фуражен и пивоварен ечемик  
Table 1. Working collection of winter feed and malting barley

Генотип Genotype	Систематична принадлежност Systematic affiliation
Веслец	var. <i>pallidum</i>
169-410	var. <i>pallidum</i>
244-631	var. <i>pallidum</i>
322-281	var. <i>pallidum</i>
355-267	var. <i>pallidum</i>
358-284	var. <i>pallidum</i>
360-166	var. <i>pallidum</i>
366-263	var. <i>pallidum</i>
366-268	var. <i>pallidum</i>
390-304	var. <i>pallidum</i>
472-181	var. <i>pallidum</i>

Генотип Genotype	Систематична принадлежност Systematic affiliation
509-250	var. <i>pallidum</i>
511-231	var. <i>pallidum</i>
164-452	var. <i>parallellum</i>
Каскадьор 3	var. <i>erectum</i>
Обзор	var. <i>erectum</i>
Перун	var. <i>mutans</i>
183-421	var. <i>erectum</i>
249-422	var. <i>mutans</i>
411-288	var. <i>mutans</i>
419-203	var. <i>mutans</i>

зимоустойчивостта при ечемика. Линиите са с различна систематична принадлежност, характеризират се със специфично фенологично развитие и устойчивост към икономически важните болести по ечемика.

Опитът е проведен в рамките на Генофонда на института, на парцели с големина 10 m<sup>2</sup>. Посевната норма е 430 кълняеми семена на 1 m<sup>2</sup>. През всички години на изследването, предшественикът е грах за зърно. В началото на месец февруари е извършено подхранване с 0.04 t/ha активно вещество азот.

Изкуственото инокулиране на линиите с всеки един от видовете (*F.graminearum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum*) е извършено в две повторения (по 5 класа за вид, подбрани рандомизирано), когато 50% от растенията са във фаза цъфтеж (фаза 65 по Zadoks,1974).

Инокулумът е подготвен върху твърда хранителна среда картофено-декстрозен агар (PDA). Инкубацията е извършена при 25°С и фотопериод 12 h ден/12 h нощ. След 7 дни дискове с големина 10 mm са прехвърлени върху свежа хранителна среда за развитие в продължение на 3 седмици. След продуцирането на макроконидии културите от всеки вид са смити и прецедени през тензук, след което течността е разреждана със стерилна дестилирана вода и концентрацията е доведена до 10<sup>6</sup> инфекциозни единици на ml. С така получената суспензия е опръсквана всяка група от класове и е поставяна полиетиленова торбичка за 24h за постигане на влажна камера. Инокулираните класове са обхванати с канап и е поставяна табелка, показваща вида, с който е извършена инокулацията. В периода на наливане на зърното е извършено второ инокулиране (фаза млечна зрялост). На срещуположният край на всеки сорт или линия е опръсквана контрола само с вода, като след свалянето на влажната камера контролата е двукратно третирана с Фалкон през 10 дни.

Степента на нападение е отчетена от 21 до 40 дена след инокулиране на класовете, докато са още зелени, чрез определяне дела на болните класчета в класа. Оценката е направена съобразно 4-степенна скала предложена от Masterhazy (1988). След прибиране класовете са ръчно оронени и зърната са разделени на видимо болни и видимо здрави. Видимо здравите зърна са допълнително тествани за скрита зараза, като първоначално са поставяни в блюда върху навлажнена филтърна хартия. Така на четвъртия ден болните зърна се покриват с памуковиден, леко розов мицел, а зърната, които не са показали развитие на зараза и нямат нормална кълняемост се залагат отново върху селективна хранителна среда – Penta Chlor Nitro Benzen (PCNB). Изчислен е процентът на болните зърна спрямо здравите, имайки предвид явната и скрита зараза в тях и е представен като FNB-index.

$$\text{FNB — index} = \frac{\text{бр. зърна видимо болни} + \text{бр. зърна с вътрешна зараза}}{\text{общ бр.зърна в клас}} \times 100$$

Сортовете и линиите са групирани по клас на устойчивост съобразно направената полска оценка и показаният процент болни зърна за всяка от годините на изпитване по скала предложена от Zhang et al.(2008).

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите от проучването направено спрямо три вида *Fusarium* (*F. graminearum*, *F. culmorum* и *F. avenaceum*) при 21 генотипа ечемик са представени в Таблица 2. От представените данни се вижда, че видът *F. avenaceum* е силно агресивен и всички изпитани спрямо този вид сортове и линии са високо чувствителни.

Таблица 2. Болни зърна (%) при 21 генотипа ечемик изкуствено заразени с 3 вида от род *Fusarium*  
Table 2. Sick grains (%) in 21 barley genotip artificially infected with 3 types *Fusarium*

Генотип Genotype	% болни зърна / заразеност / Sick grains (%)											
	<i>F.graminearum</i>				<i>F.culmorum</i>				<i>F.avenaceum</i>			
	2007	2008	2009	полска оценка field assessment	2007	2008	2009	полска оценка field assessment	2007	2008	2009	полска оценка field assessment
Веслец	67,8	12,4	24,2	1	33,6	49,5	8,1	1-2	66,5	69,7	80,5	3-4
Обзор	7,0	29,7	23,0	0-1	19,7	39,7	4,9	0-1	67,9	92,5	69,5	2-4
Перун	2,8	14,2	50,5	1-2	1,1	19,6	94,7	1	58,1	53,2	77,8	1-3
Каскадьор3	0,7	14,5	50,3	0-1	12,1	27,3	49,9	0-1	79,3	93,6	82,0	3-4
249-422	58,3	47,2	3,3	0-1	59,6	36,0	13,7	0-1	75,5	87,5	68,2	1-2
164-452	25,5	65,1	22,2	0-1	49,9	50,5	16,5	1	67,2	73,8	88,0	3-4
511-231	38,3	62,7	35,5	1	27,5	69,2	73,1	1-2	66,1	92,1	96,6	4
358-284	2,9	82,5	8,4	1-2	15,3	86,0	33,7	1	70,1	63,8	92,5	4
183-421	20,7	16,8	10,5	0	29,2	36,2	0,8	0-1	58,3	77,4	61,2	3
509-250	4,6	80,0	4,4	1-2	14,8	86,5	26,8	1-2	43,1	81,2	87,9	3-4
360-166	10,7	67,7	38,3	0-1	16,7	70,8	29,9	0-1	71,4	87,2	92,5	3-4
411-288	2,3	20,1	19,4	1	13,1	23,4	12,8	1	66,5	56,5	72,9	3-4
244-631	14,8	12,3	39,6	1	8,5	8,2	36,2	1	51,7	19,4	62,6	3-4
472-181	19,6	20,7	35,1	0-1	11,4	10,3	32,2	1	79,5	75,2	83,5	3-4
390-304	20,7	9,4	47,5	0-1	27,1	20,8	70,5	0-1	84,2	73,2	90,1	3-4
322-281	39,5	18,1	47,6	0-1	28,1	16,6	51,4	0-1	77,7	88,5	90,8	3-4
366-268	22,4	14,9	33,1	1-2	19,4	20,6	53,2	1-2	90,8	82,9	93,0	3-4
355-267	6,0	8,9	48,2	0-1	24,5	15,5	60,2	1-2	82,3	63,5	97,0	2-4
366-263	33,7	18,4	60,1	1-2	31,4	19,6	67,6	1-2	87,8	82,5	76,9	3-4
169-410	42,3	21,5	64,5	1	50,6	17,6	64,3	1-2	86,1	73,6	94,4	3-4
419-203	22,6	12,0	70,3	0-1	15,4	5,2	47,8	0-1	63,1	60,3	81,6	2-3

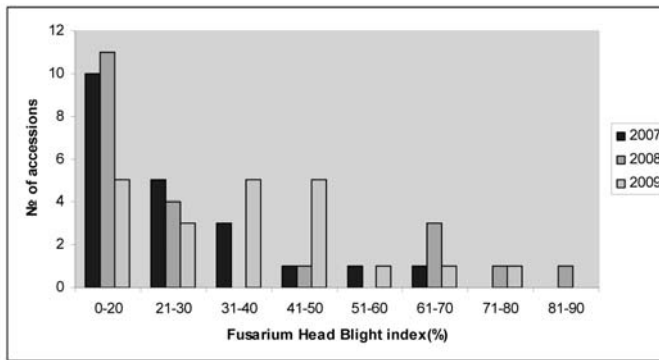
Според направената полска визуална оценка спрямо *F. avenaceum* само при линии 249-422 и 419-203 е отчетено по-слабо нападение на класа (Таблица 2), а теста проведен за установяване на процента болни зърна доказва, че патогенът е продължил да се развива и е предизвикал по-висока степен на заразеност на зърната в тези линии. При сорт Перун и линия 183-421 също е отчетено по-слабо нападение на класа, но през две от годините на изпитване процентът на заразеност на зърната е в по-ниска степен и това поставя тези два генотипа не в групата на високо, а на средно чувствителните линии. При всички останали генотипове спрямо видът *F. avenaceum* полската оценка е 3-4, която отчита високо нападение на класа и съвпада с високият процент на заразеност при зърната.

Таблица 3. Клас на устойчивост при отделните генотипове ечемик  
Table 3. Resistance class in different barley genotype

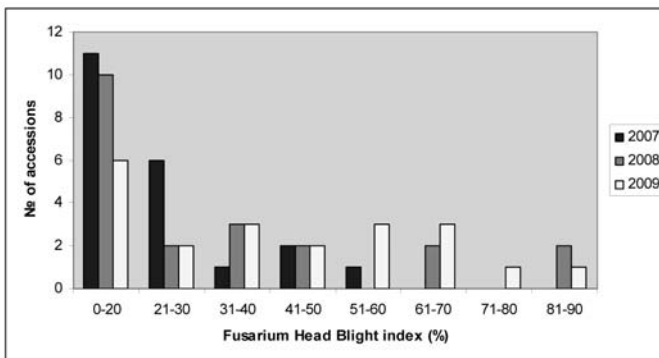
Генотип Genotype	<i>F.graminearum</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. avenaceum</i>
Веслец	VR-R-S	VR-MS	S
Обзор	VR-MR	VR-MR	S
Перун	VR-MS	VR-S	MS-S
Каскадьор 3	VR-MS	VR-MS	S
249-422	VR-MS	VR-MS	S
164-452	R-S	R-MS	S
511-231	MR-S	R-S	S
358-284	VR-S	R-S	S
183-421	VR-R	VR-MR	MS-S
509-250	VR-S	VR-S	MR-S
360-166	VR-S	R-S	S
411-288	VR-R	VR-R	S
244-631	VR-MR	VR-MR	R-S
472-181	R-MR	VR-MR	S
390-304	VR-MS	R-S	S
322-281	R-MS	R-MS	S
366-268	R-MR	R-MS	S
355-267	VR-MS	R-S	S
366-263	R-S	R-S	S
169-410	R-S	R-S	S
419-203	VR-S	VR-MS	S

Другите два вида *F. graminearum* и *F. culmorum* са по-малко агресивни в сравнение с видът *F. avenaceum*. При всички изпитани сортове и линии спрямо *F. graminearum* полската оценка варира от 0 до 1. Сорт Перун и линии 358-284, 509-250, 366-268 и 366-263 при този вид са показали устойчивост от порядъка 1-2. Спрямо *F. culmorum* полската оценка варира в същите граници от 0-1 до 1-2. Индексът на фузариозата по класа спрямо трите вида фузариум (*F. graminearum*, *F. culmorum* и *F. avenaceum*) е представен на фигури 1-3.

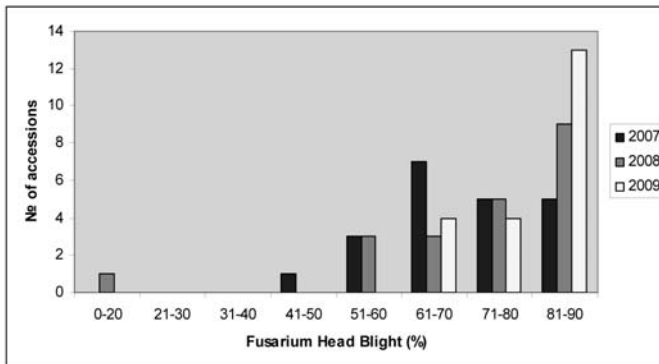
През трите години на изследване от графиките се вижда, че най-голям е делът на линиите попадащи в диапазона от 0 до 20 при двата вида *Fusarium*. На фигура 3 е представен индексът на фузариозата спрямо *F. avenaceum* и от там е видно, че най-голям е делът на линиите попадащи в диапазона от 81 до 90 и през трите години на изпитване. Само през 2007 година при този вид *Fusarium* е регистриран по-висок дял на линиите попадащи в диапазона от 61 до 70.



Фиг.1.Fusarium graminearum



Фиг. 2 Fusarium culmorum



Фиг.3 Fusarium avenaceum

Спрямо *F. culmorum* в групата на високо устойчивите до устойчиви попада линия 411-288. Сорт Обзор и линии 183-421, 244-631 и 472-181 проявяват устойчивост от типа висока до средна устойчивост. Спрямо двата вида фузариум (*F. graminearum* и *F. culmorum*) с много добра устойчивост са сорт Обзор и линии 183-421, 411-288, 244-631 и 472-181. Всички те биха могли да се използват в селекцията на устойчивост към тези два патогена.

## ИЗВОДИ

От изпитаните 3 вида *Fusarium* (*F. graminearum*, *F. culmorum* и *F. avenaceum*) най-силно агресивен е видът *F. avenaceum*. Всички изпитани сортове и линии спрямо този вид са силно чувствителни.

Индексът на фузариозата по класа (FHB-index) при *F. graminearum* и *F. culmorum* показва, че най-голям брой линии при тези два вида попадат в диапазона 0-20, а при *F. avenaceum* е най-голям делът на линиите попадащи в диапазона 81-90.

Спрямо *F. graminearum* устойчивост от тип VR-MR са проявили сорт Обзор и линия 244-631; устойчивост от тип VR-R са проявили линии 183-421 и 411-288, а линия 472-181 е реагирала с устойчивост от типа R-MR.

Спрямо *F. culmorum* устойчивост от тип VR-MR са проявили сорт Обзор и линии 183-421, 244-631 и 472-182, а линия 411-288 е реагирала спрямо този вид с устойчивост от тип VR-R.

Спрямо двата вида *Fusarium* (*F. graminearum* и *F. culmorum*) с добра устойчивост са сорт Обзор и линии 183-421, 411-288, 244-631 и 472-181. Посочените линии и сортове биха могли да се ползват в селекцията като източници на устойчивост към тези два вида фузариум.

## ЛИТЕРАТУРА

- Bargsjo, B., T. Matre, I. Nafstad, 1992.** J.Vet.Med., A39,752-758.
- Bennett, F. T., 1928.** On two species of *Fusarium*, *F.culmorum* (W.G. Sm) sacc and *F. avenaceum* (Fries.) sacc, as parasites of cereals. Annals of Applied Biology, vol 15, 2, 213-244.
- Њалони, F., Cortinovis C., 2010.** Effects of fusariotoxins in the equine species. The Veterinary Journal, 186: 157-161.
- Cosic J., Jurkovic D., Vrandecic K., Simic B., 2007.** Pathogenicity of *Fusarium* species to wheat and barley ears. Cereal Research Communications, 35: 529-532.
- Chelkowski, J.(ed.), 1989.** Fusarium, Mycotoxins, Taxonomy and Pathogenicity. Topics in Secondary Metabolites, vol. 2, Elsevier, Amsterdam.
- Chrpova, J., Sip V., Stockova L., Stemberkova L., Tvaruzek L., 2011.** Resistance to fusarium head blight in spring barley. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, 47:58-63.
- Dvojkovic, K., Drezner G., Horvat D., Novoselovic D., Spanic V., 2007.** Fusarium head blight influence on agronomic and quality traits of winter wheat cultivars. Cereal Research Communications, 35: 365-368.
- Husti, I., 2006.** The main elements of sustainable food chain management. Cereal Research Communications, 34: 793-796.
- Kerekes, G., 2004.** Effect of some new compounds on kernel infection with *Fusarium*, germination ability and thousand-grain weight of wheat. Cereal Research Communications, 32: 525-531.
- Kosova, K., Chrpova J., Sip V., 2009.** Cereal resistance to Fusarium head blight and possibilities of its improvement through breeding. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, 45: 87-105.
- Mesfin, A., Smith K. P., Dill-Macky R., Evans C. K., Waugh R., Gustus C. D., Muehlbauer G. J., 2003.** Quantitative trait loci for Fusarium head

- blight resistance in barley detected in a two-rowed by sixrowed population. *Crop Science*,43: 307-318.
- Mesterhazy, A., 1988.** Expression of resistance to *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum* under various experimental conditions. *J. Phytopathology* 123,304-310.
- Rudd, J. C., Horsley R. D., McKendry A. L., Elias, E. M., 2001.** Host plant resistance genes for Fusarium head blight: sources, mechanisms and utility in conventional breeding systems. *Crop Science*,41: 620-627.
- Sip V., Tvaruzek L., Chrpova J., Sykorova S., Leisova L., Kucera L., Ovesna J., 2004.** Effect of Fusarium head blight on mycotoxin content in grain of spring barley cultivars. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 40: 91-101.
- Steffenson B. J., Smith K. P., 2006.** Breeding barley for multiple disease resistance in the Upper Midwest region of the USA. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 42: 79-85.
- Ueno, Y., 1983.** Trichothecenes – Chemical, Biological and Toxicological Aspects. Development in Food Science, vol.4, Elsevier, Amsterdam.
- Valcheva, A., Valchev G., 2007.** The fusariotoxins zearalenon and deoxinivalenol as natural contaminants of some basic cereal components in the production of combined feed. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 13: 99-104.
- Vřlcheva, D., Vulchev D., 2009.** Lardeya – new Bulgarian winter brewing barley variety. *Plant Science*, 46: 475-478 (Bg).
- Vulchev, D., Gocheva Ī., 2010.** Winter two rowed malting barley Zagorets variety – *Plant Science*, 47: 282-285 (Bg).
- Vřlcheva, D., Vulchev D., 2010.** Orpheus – the first Bulgarian drought resistant barley variety. *Plant Science*, 47: 187-189 (Bg).
- Wagacha, J. M., Muthomi J. W., 2007.** *Fusarium culmorum*: Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat. *Crop Protection*, 26: 877-885.
- Wisniewska, H., Percowski, J., Kaczmarec Z., 2004.** Scab response and deoxynivalenol accumulation in spring wheat kernels of different geographical origins following inoculation with *Fusarium culmorum*. *Journal of Phytopathology*, 152: 613-621.
- Zadoks, J. C., Chang T. T., Konzak G.F., 1974.** A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed*. 14: 415-421.
- Zhang, J. X., Yue J., Jackie R., H. Bockelman, 2008.** New Fusarium head blight resistant spring wheat germplasm identified in the USDA national small grains collection. *Crop Science*, 48: 223-225.
- Zhu, H., Gilchrist L., Hayes P., Kleinhofs A., Kudrna D., Liu Z., Prom L., Steffenson B., Toojinda T., Vivar H., 1999.** Does function follow form? Principal QTLs for Fusarium head blight (FHB) resistance are coincident with QTLs for inflorescence traits and plant height in a doubled-haploid population of barley. *Theoretical and Applied Genetics*, 99: 1221-1232.