

## RÉGI MAGYAR BÚZAJÁRTÁK, MINT LEHETSÉGES KALÁSZFUZÁRIUM REZISZTENCIAFORRÁSOK

LÁSZLÓ EMESE, PUSKÁS KATALIN, SZUNICS LÁSZLÓ, VEISZ OTTÓ,  
VIDA GYULA

MTA Mezőgazdasági Kutatóintézete, Martonvásár

Kísérleteinkben a régi magyar búzafajták kalászfuzárium rezisztenciáját meghatározó genetikai faktorokat azonosítottunk. A rezisztencia genetikai hátterének tanulmányozására a 'Bánkúti 1201' régi magyar fajta 'BKT9086-95' jelű rezisztens törzsét a mérsékelt rezisztens 'Mv Magvas' fajtaival kereszteztük, majd a kombinációból SSD populációt hoztunk létre. A hasadó utódpopuláció vizsgálataihoz a mesterséges fertőzési kísérletek eredményei alapján 15 rezisztens, illetve 15 fogékony genotípust választottunk. A csoportosított mintákat és a szülőket amplifikált fragment hossz polimorfizmus (AFLP) módszerrel vizsgáltuk. A 4 csoportosított minta és a szülők DNS-ét összesen 81 primerkombinációval teszteltük. A szülők között reakciónként átlagosan 5,02 eltérő mintázatot figyeltünk meg, 16 esetben nem tudtunk közöttük polimorfizmust azonosítani. Az ellenállóbb szülőben és a rezisztens egyedekből kialakított mintákban 16 esetben találtunk azonos méretű reakcióterméket, ami a fuzárium rezisztenciával kapcsolatban álló genetikai háttér jelenlétére utalhat. Megkezdtük a szülőpár tesztelését mikroszatellit, továbbá a teljes populáció vizsgálatát AFLP markerekkel.

**Kulcsszavak:** búza, kalászfuzárium, rezisztencia, QTL, molekuláris markerek

## OLD HUNGARIAN WHEAT VARIETIES AS POSSIBLE FUSARIUM HEAD BLIGHT RESISTANCE SOURCES

E. LÁSZLÓ, K. PUSKÁS, L. SZUNICS, O. VEISZ, G. VIDA

Agricultural Research Institute of the Hungarian Academy of Sciences,  
Martonvásár

The aim of the experiments was to detect and analyse the genetic factors responsible for the FHB resistance of old Hungarian wheat varieties. The resistant 'BKT9086-95' line developed from the variety 'Bánkúti 1201' was crossed with the moderately FHB-resistant variety 'Mv Magvas' to create a single seed descent population for the purpose of studying the genetic background of resistance. Based on the results of the artificial inoculation, 15 resistant and 15 susceptible genotypes were selected for the purpose of bulked segregant analysis. The bulk samples and the parents were analysed using the amplified fragment length polymorphism (AFLP) method. The two bulk samples and the parents were tested with a total of 81 primer combinations, and an average of 5.02 deviations per reaction was found between the parents. AFLP patterns similar to that of the resistant parent were found in a further 16 cases. On the basis of the bulk segregant analysis results the testing of the whole population using the AFLP and simple sequence repeat methods has been commenced.

**Key words:** wheat, Fusarium head blight, resistance, QTL, molecular markers

## Bevezetés

A kalászfuzárium a világ gabonatermesztő régióiban jelentős gazdasági károkat okozó betegség. A búzát több *Fusarium* faj képes fertőzni, melyek közül a jellegzetes körképet hazánkban elsősorban a *F. graminearum* és a *F. culmorum* okozza. A kalászkák és a kalászorsó elszíneződése, a kifehéredő kalászok jelzik a patogén gombafajok jelenlétét. A fertőzött kalászokban a szemek tipikusan fehérek vagy rózsaszínűek, tömegük az egészségeshez viszonyítva csökken, ami jelentős termésvesztéshez vezethet. A legfőbb problémát azonban a mikotoxin felhalmozódás jelenti, melynek következtében a termés állati és emberi felhasználásra alkalmatlanná válik (Hornok et al. 2005, Reddy et al. 2008, Szabó-Fodor et al. 2008). Jelenlegi ismereteink szerint a *Fusarium graminearum* és a *F. culmorum* a leggyakrabban előforduló fuzárium fajok Közép-Európában (Tóth et al. 2005).

A kémiai védekezés hatékonysága nagyban függ az alkalmazás időpontjától (Prigozliev et al. 2008) és a technológiájától (Lehoczki-Krsjak et al. 2008). A legjelentősebb ellenállóképességet az ázsiai ('Sumai 3' és származékai), valamint dél-amerikai fajták (pl. 'Frontana') hordozzák (Bai és Shaner 2004). E rezisztenciaforrások agronómiai tulajdonságai jelentősen eltérnek a hazai fajtákétól, a rezisztensnek mondott európai forrásokról pedig bebizonyosodott, hogy mindössze a mérsékelt ellenálló kategóriába tartoznak (pl. 'Arina', Ruckenbauer et al. 2001).

A kalászfuzárium Magyarországon már az 1920-as évek óta ismert betegség. Az első országos epidémia azonban csak 1970-ben következett be, ami az intenzívebbé váló termesztési eljárások és a fertőzéshez kedvező időjárási feltételek mellett a fajták fogékonyságával is magyarázható (Kükedi 1988). Magyarországon a 'Bezostaja 1' 1960-ban kapott állami elismerést, majd e fajta vetésterülete rohamosan nőtt és hamarosan elfoglalta az őszi búza vetésterületének közel 80%-át (Koltay és Balla 1982). A 'Bezostaja 1' kalászfuzárium fertőzésre fogékony (Mesterházy 1986) és e fajtát tették felelőssé többben is az 1970-es epidémia fellépéséért (Szunics et Szunics 1992). A későbbiekben, többek között éppen e kedvezőtlen tulajdonság váltotta ki a fajta gyors visszaszorulását a köztermesztésben (Bedő et al. 2001). Mivel a régi magyar búzafajták a köztermesztésben nem fertőződtek, felmerül a kérdés: vajon ezen fajták mindössze a különböző tényezők kedvező összjátéka miatt nem betegedtek meg, vagy valóban genetikailag kódolt az ellenállóság? Mesterségesen fertőzött kísérleteinkben évtizedek óta vizsgáljuk a 'Bánkúti 1201' ellenállóságát, és e fajta konzekvensen a fuzáriummal szemben leginkább ellenálló genotípusok csoportjába tartozott (Szunics et Szunics 1992).

A régi magyar fajták populáción belüli homogenitására jellemző, hogy morfológiailag többé-kevésbé megkülönböztethetőek, de heterogénebbek mind a beltartalmi tulajdonságaik, mind biokémiai, vagy molekuláris markerek alapján a korszerű növényfajtáknál (Vida et al. 1998, Rakszegi et al. 2000, Juhász et al. 2000).

## Anyag és módszer

A szántóföldi tesztelés során több 'Bánkúti 1201' eredetű törzs részletes vizsgálatát is elvégeztük. E kísérletben ismert rezisztenciaforrásokat, valamint fogékony kontroll fajtát is elvettünk, melyeket a 'Bánkúti 1201' törzsekkel azonos módszerrel kezeltünk. A tesztelést egy-egy *F. graminearum* és *F. culmorum* izolátummal végeztük, 3-3 ismétlésben. Az azonos fejlettségű kalászköbök összeállított csokrokat  $5 \cdot 10^5$  makrokonídium/ml sűrűségű spórasuszpenzióval virágzaskor fertőztük. Az inokulálást két nap elteltével megismételtük. A kalászok fertőződését a többi kísérlethez hasonlóan a 26. napon értékeltük.

A kísérletbe állított 'Bánkúti 1201' törzsek közül a 'BKT9086-95' számú bizonyult a legellenállóbbnak, fuzáriumos kalászfertőzöttsége 10-20% közötti volt. Összehasonlítással a rezisztens 'Sumai 3' ugyanezen értéke 1%, a fogékony kontrollé 70-80% volt. E törzset több martonvásári fajtával kereszteztük. A kombinációk közül a 'BKT9086-95'/'Mv Magvas' szülőfajtáinak FHB rezisztenciája különbözött a legjobban, így ezt a kombinációt választottuk ki a további vizsgálatokhoz. Az utódpopulációból kiegyenlített törzseket hoztunk létre SSD módszerrel és e törzseket használva kezdtük meg a 'Bánkúti 1201' FHB rezisztenciájával összefüggő kromoszómaregiók azonosítását.

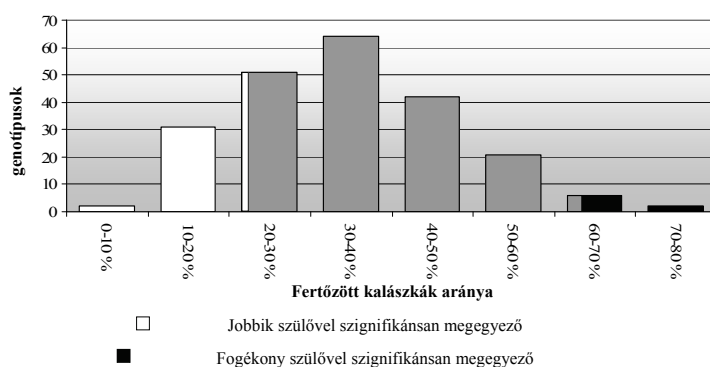
A kombinációból üvegházban és szántóföldön 250 SSD törzs rezisztenciáját vizsgáltuk a *Fusarium* kalászban terjedésével szemben (II. típusú rezisztencia). A mesterséges fertőzéshez az 'IFA-104'-es *F. culmorum* izolátumot használtuk. A konídiumokat fertőzött magvak felületéről mostuk le, majd a spórakoncentrációt 1 millió/ml-re állítottuk be. Minden törzsből 4-4 növényen a kalász felső 2/3-adánál elhelyezkedő kalászkötőt inokuláltuk 5-5 µl konídium szuszpenzióval. A kalászok *Fusarium* fertőzöttségét (borítottság %) az inokulációt követő 21. napon határoztuk meg.

Az üvegházban vizsgált növényegyedekből DNS-t izoláltunk (Qiagen DNeasy Plant Mini kit), majd a szélsőséges értékű növények DNS oldatából csoportosított (bulk) mintákat alakítottunk ki. A fertőzött kalászkötő aránya és a Xu-Fan skála alapján (2005, 2006 szántóföldi és 2007 üvegházi adatok) 15-15 rezisztens illetve fogékony növényt választottunk a csoport szegregáns analízis elvégzésére. A csoportosított mintákat és a szülőket amplifikált fragment hossz polimorfizmus (AFLP) módszerrel vizsgáltuk. A reakciótermékeket 6% poliakrilamid gélen választottuk el Li-Cor 4300 DNS szekvenáló géldokumentációs rendszert használva.

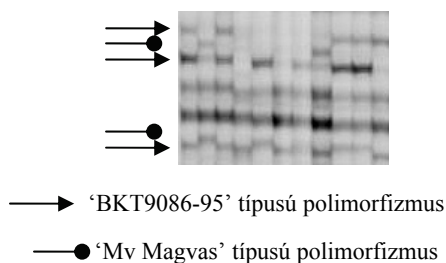
## Eredmények és következtetések

A 2005. évben 36,7%, 2006-ban 31,7%-os fuzáriumos kalászbtorítottságot figyeltünk meg a törzsek átlagában. A két év átlagértékeit tekintve a törzsek, a szülők és a kontroll fajták fertőzöttsége 5,0 és 72,3% között változott. A 2005. és 2006. évi adatok átlaga alapján a 'BKT9086-95' szülő értéke volt a legkisebb (5,0%), amelyet közvetlenül a 'Sumai 3' ismert rezisztenciaforrás követett (6,37%). Statisztikailag az ellenállóbb szülővel 36 törzs fertőzöttsége azonos volt ( $SzD_{5\%}=16,8$ ). A fogékony 'Mv Magvas' szülő a rezisztens szülőhöz viszonyítva több mint a szignifikáns differencia kétszeresével erősebben fertőződött (44,8%). Hat törzsből a fogékony szülőnél is szignifikánsan nagyobb kalászbtorítottságot figyeltünk meg (1. ábra). A törzsek kalászfertőzöttség szerinti eloszlása szignifikánsan nem különbözik a normál eloszlástól (Kolmogorov-Szmirnov teszt,  $D=0,048ns$ ). Mivel a legjobb és legrosszabb FHB ellenállóságú törzs között nagy az intervallum, továbbá a populáció normál eloszlásának tekinthető, a törzsekből álló populáció alkalmas a molekuláris szintű vizsgálatok elvégzésére, az FHB rezisztenciával kapcsolt DNS szekvenciák azonosítására.

A fertőzött kalászkák aránya és a Xu-Fan skála alapján 15-15 rezisztens, illetve fogékony növényt választottunk ki, melyek DNS mintáit használva csoportosítottuk az anyákat és a szülőket AFLP módszerrel vizsgáltuk. A 4 csoportosított minta és a szülők DNS-ét összesen 81 primerkombinációval teszteltük. A szülők között reakciónként átlagosan 5,02 eltérő mintázatot figyeltünk meg. Az ellenállóbb szülőben és a rezisztens egyedekből kialakított mintákban 20 esetben találtunk azonos méretű reakcióterméket, ami a fuzárium rezisztenciával kapcsolatban álló genetikai háttér jelenlétére utalhat.



1. ábra A 'BKT9086-95'/'Mv Magvas' törzsek gyakorisági megoszlása fertőzött kalászkák aránya alapján



2. ábra Polimorf AFLP termékek

A populáció átlagában 8,7 eltérő terméket azonosítottunk reakciónként az anyai típusú mintázatot adó markerekkel (2. ábra), a tapasztalt polimorfizmusok 40%-a anyai típusú. Az elvégzett vizsgálatok igazolják a BSA-val kimutatott genetikai markerek jelenlétét a teljes populáció szintjén.

## Köszönetnyilvánítás

Munkánkat az OTKA T49080 pályázat és az AGRISAFE 203288 sz. EU-FP7-REGPOT 2007-1 pályázat támogatta.

## Irodalom

- Bai, G., H., Shaner, G. (2004): Management and resistance in wheat and barley to Fusarium head blight. *Annu Rev Phytopathol*, **42**, 135-161.
- Bedő, Z., Láng, L., Sutka, J., Molnár-Láng, M. (2001): Hungarian Wheat Pool. In: A. P. Bonjean, W. J. Angus. (eds) The world wheat book. A history of wheat breeding, Lavoisier Publishing, Londres-Paris-New York, 193-218.
- Hornok, L., Békési, G., Giczey, G., Jeney, A., Nicholson, D., Parry, A., Ritieni, A., Xu, X., (2005): Occurrence of Fusarium ear blight pathogens and mycotoxin accumulation in winter wheat in Hungary between 2001 and 2004. *Növénytermelés*, **54**, 217-235.
- Juhász, A., Kárpáti, M., Vida, Gy., Rakszegi, M., Láng, L., F., J., Zeller, S., L., K., Hsam, Bedő, Z. (2000): Régi magyar búzafajták populációinak elemzése új genetikai források előállítására. Az agrobiodiverzitás megőrzése és hasznosítása – szimpózium Jánossy Andor emlékére, 2000. május 4-5. Budapest, 67-71.
- Koltay, Á, Balla, L. (1982): Búzatermesztés és -nemesítés. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
- Kükedi E.: 1988. Az őszi búza fuzariózisairól, különös tekintettel az időjárásra és a termesztéstechnikára. *Növénytermelés*, **37**, 83-89.
- Lehoczki-Krsjak, Sz., Tóth, B., Kótai, Cs., Martonosi, I., Farády, L., Kondrák, L., Szabó-Hevér, Á., Mesterházy, Á. (2008): Chemical control of FHB in the wheat with different nozzle types and fungicides. *Cereal Res Comm*, **36 Suppl B**, 677-681
- Mesterházy, Á. (1986): Kalászfuzariózissal szembeni ellenállóság őszi búzában. *Növénytermelés*, **35**, 407-417.
- Prigozhiev, S., R., Ray, R., V., Edwards, S., G., Hare, M., C., Jenkinson, P. (2008): Effect of timing of fungicide application on the development of Fusarium head blight and the accumulation of deoxynivalenol (DON) in winter wheat grain. *Cereal Res Comm*, **36**, 289-299.
- Rakszegi, M., Scholz, É., Kárpáti, M., Ganzler, K., Lásztity, R., Bedő, Z. (2000): Study of the LMW glutenin composition of some old Hungarian wheat cultivars using capillary electrophoresis. *Cereal Res Comm*, **28**, 417-424.
- Ruckenbauer, P, Buerstmayr, H., Lemmes, M. (2001): Present strategies in resistance breeding against scab (Fusarium spp.). *Euphytica*, **119**, 121-127
- Szunics, Lu., Szunics, L., (1992): Búza kalászfuzárium fertőzési módszerek és a fajták fogékonysága. *Növénytermelés*, **41**, 201-210.
- Tóth, B., Mesterházy Á., Horváth, Z., Bartók, T., Varga, M., Varga, J. (2005): Genetic variability of Central European isolates of the Fusarium graminearum species complex. *Eur J Plant Pathol*, **113**, 35-45
- Vida, G., Bedő, Z., Láng, L., Juhász, A. (1998): Analysis of the quality traits of a 'Bánkúti 1201' population. *Cereal Res Comm*, **26**, 313-320.
- Reddy, B., Raghavender, C. (2008): Outbreaks of fusarial toxicoses in India. *Cereal Res Comm*, **36 Suppl B**, 321-326.
- Szabó-Fodor, J., Kametler, L., Pósa, R., Mamet, R., Rajli, V., Bauer, J., Horn, P., Kovács, F., Kovács, M. (2008): Kinetics of fumonisin B1 in pigs and persistence in tissues after ingestion of a diet containing a high fumonisin concentration. *Cereal Res Comm* **36 Suppl B**, 331-336.