



UNIwersytet Technologiczno-Przyrodniczy  
IM. JANA I JĘDRZEJA ŚNIADECKICH W BYDGOSZCZY

**RADA NAUKOWA DISCYPLINY  
ROLNICTWO I OGRODNICTWO**

**ROZPRAWA DOKTORSKA**

mgr Karol Lisiecki

REAKCJA GENOTYPÓW PSZENICY  
(*Triticum aestivum* L.) NA PATOGENY  
Z RODZAJU *Rhizoctonia*

*Wheat (Triticum aestivum L.) genotype  
reaction to pathogens of the Rhizoctonia genus*

DZIEDZINA: nauki rolnicze

DYSCYPLINA: rolnictwo i ogrodnictwo

**PROMOTOR**

DR HAB. INŻ. GRZEGORZ LEMAŃCZYK, PROF. UCZELNI  
PRACOWNIA MYKOLOGII MOLEKULARNEJ, FITOPATOLOGII I ENTOMOLOGII  
KATEDRA BIOLOGII I OCHRONY ROŚLIN, WYDZIAŁ ROLNICTWA I BIOTECHNOLOGII  
UNIwersytet Technologiczno-Przyrodniczy IM. J. J. ŚNIADECKICH W BYDGOSZCZY

**PROMOTOR POMOCNICZY**

DR INŻ. ALEKSANDER ŁUKANOWSKI  
PRACOWNIA MYKOLOGII MOLEKULARNEJ, FITOPATOLOGII I ENTOMOLOGII  
KATEDRA BIOLOGII I OCHRONY ROŚLIN, WYDZIAŁ ROLNICTWA I BIOTECHNOLOGII  
UNIwersytet Technologiczno-Przyrodniczy IM. J. J. ŚNIADECKICH W BYDGOSZCZY

**BYDGOSZCZ  
2021**



## **PODZIĘKOWANIA**

*Składam serdeczne podziękowania mojemu promotorowi dr. hab. inż. Grzegorzowi Lemańczykowi, prof. uczelni, mojemu mentorowi, bez którego niniejsza praca by nie powstała. Dziękuję za nieocenioną pomoc, poświęcony czas, uwagi, sugestie oraz właściwe ukierunkowanie.*

*Dziękuję również wszystkim Pracownikom Katedry Biologii i Ochrony Roślin za wszelkie rady i pomoc.*

*Chcę podziękować Rodzicom za wspieranie mnie na każdym etapie powstawania niniejszej pracy oraz za stworzenie warunków do nauki.*



## SPIS TREŚCI

1. WSTĘP.....	7
2. CEL BADAŃ .....	8
3. PRZEGLĄD LITERATURY .....	9
3.1. Znaczenie pszenicy w Polsce i na świecie.....	9
3.2. Grzyby z rodzaju <i>Rhizoctonia</i> jako patogeny roślin.....	10
3.3. Ochrona roślin przed grzybami z rodzaju <i>Rhizoctonia</i> .....	12
3.3.1. Metody konwencjonalne.....	12
3.3.2. Biologiczna ochrona roślin .....	14
3.3.3. Problem wrażliwości roślin na patogeny z rodzaju <i>Rhizoctonia</i> ..	19
3.3.4. Markery odporności w walce z patogenami i ich wewnątrzustrojowe modele działania .....	22
4. METODYKA BADAŃ.....	27
4.1. Badania wrażliwości odmian pszenicy prowadzone w warunkach polowych .....	27
4.2. Badanie wrażliwości odmian pszenicy prowadzone w teście bibułowym.....	30
4.3. Badania aktywności wybranych markerów odporności .....	30
4.3.1. Oznaczenia aktywności wybranych markerów .....	31
4.3.2. Określenie stopnia relatywnej intensywności interakcji (RII) .....	33
4.4. Analizy statystyczne.....	33
5. WYNIKI.....	35
5.1. Wrażliwość genotypów pszenicy na <i>Rhizoctonia</i> określana w warunkach polowych.....	35
5.2. Wrażliwość odmian pszenicy na <i>Rhizoctonia</i> określana w teście bibułowym.....	39
5.3. Badania relacji roślina-patogen .....	62
5.3.1. Wpływ grzybów z rodzaju <i>Rhizoctonia</i> na zdrowotność roślin....	62
5.3.2. Wpływ grzybów z rodzaju <i>Rhizoctonia</i> na świeżą biomasę roślin .....	69
5.3.3. Indeks interakcji roślina-mikroorganizm (RII) .....	75
5.4. Analiza aktywności chitynaz .....	79
5.5. Analiza aktywności glukanaz .....	85
5.6. Analiza aktywności dysmutazy ponadtlenkowej.....	90
5.7. Analiza zawartości wolnych cukrów .....	94
5.8. Analiza składowych głównych (PCA) .....	96
6. DYSKUSJA.....	107
7. WNIOSKI .....	119

8. <b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	121
9. <b>SPIS FOTOGRAFII, RYCIN I TABEL</b> .....	134
9.1. Fotografie .....	134
9.2. Rysunki.....	134
9.3. Tabele .....	136
10. <b>ANEKS</b> .....	138
11. <b>STRESZCZENIE</b> .....	142
12. <b>SUMMARY</b> .....	145

## 1. WSTĘP

Uprawom roślin zbożowych zagraża wielu patogenicznych grzybów pochodzenia glebowego, powodujących rozległe straty w agrocenozach. Patogeny poprzez oddziaływanie na gospodarkę wodną i pokarmową roślin, powodują obniżenie kondycji roślin, wzmożone reakcje na stres biotyczny i wiele innych oddziaływań, co z kolei przekłada się na wielkość oraz jakość uzyskiwanego plonu ziarna. Do patogenów o wzrastającym znaczeniu należą grzyby z rodzaju *Rhizoctonia*, które powodują wiele problemów w uprawach zbóż, zwłaszcza form ozimych (Guo i in. 2005, Hamada 2011, Lemańczyk i Kwaśna 2013). Do najbardziej szkodliwych należy *Rhizoctonia cerealis* (E.P. Hoeven) R.T. Moore (teleomorfa *Ceratobasidium cereale* D.I. Murray et Burpee) powodujący ostrą plamistość oczkową, chorobę stanowiącą wzrastający problem zarówno w Polsce jak i na całym świecie. Ponadto znaczne straty wśród upraw wywołuje *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn (teleomorfa *Thanatephorus cucumeris* (A.B. Frank) Donk) powodujący porażenie kielków, korzeni, łodyg różnych gatunków roślin, w tym również zbóż.

Skuteczna ochrona roślin bazuje obecnie na stosowaniu preparatów chemicznych, często w formie zaprawy, aczkolwiek preparaty te nie są w stanie w pełni zagwarantować ochrony zarówno przed *R. cerealis* jak i *R. solani* w uprawach pszenicy jak i innych roślin. Ponadto konwencjonalna ochrona chemiczna jest metodą nieprzyjazną środowisku jak również jest krótkotrwała ze względu na powszechne zjawisko uodparniania się mikroorganizmów na substancje czynne fungicydów. Badania wielu naukowców wskazują na potrzebę pilnego poszukiwania alternatywnych metod ochrony roślin. Główny nacisk kładzie się jednak na poszukiwanie uwarunkowań odporności pszenicy na patogeny, co umożliwiłoby otrzymanie materiału, z którego można by wyhodować odmiany charakteryzujące się mniejszą podatnością lub nawet odpornością na ostrą plamistość oczkową.

Od wielu lat bada się zagadnienia odporności roślin na patogeny, procesy wnikania patogenów, sposobów odbioru i przekazywania informacji/sygnatów o infekcji, procesów indukcji mechanizmów obronnych, ich aktywacji oraz przebiegu. Rośliny i patogeny od zawsze pozostawały w „wyścigu zbrojeń” wmyśl tzw. „modelu zygzaka”. Obie grupy organizmów dopasowują strategie ataku (patogeny) i obrony (rośliny). w toku ewolucji rośliny wypracowały wiele mechanizmów obronnych wobec wszelkich patogenów oraz szkodników żerujących lub pasożytujących na nich. Na skuteczność takiego mechanizmu nakłada się cały szereg innych indukowanych reakcji m.in. o podłożu genetycznym i biochemicznym (Liu i in. 2001, Patkowski 2008). Właściwe rozpoznanie patogenu przez roślinę w procesie infekcji jest kluczowe dla efektywnej obrony. Tak samo istotny jest niezakłócony ciąg reakcji informacyjnych oraz indukujących przeprowadzanych przez receptory roślin.

Najstarszą i zarazem najpowszechniej występującą formą odporności jest tzw. niegościnnosc (ang. nonhost). Zjawisko to wynika z istnienia specyficznych barier, które uniemożliwiają wtargnięcie patogenu do rośliny. Bariery takie mogą wynikać z budowy organu rośliny, struktury ściany komórkowej, grubej kutykuli, zawartości szkodliwych lub odstraszających związków chemicznych, niewrażliwości na działanie toksyn oraz enzymów wydzielanych przez patogeny oraz działania indukowanych mechanizmów obronnych. Patogeny na drodze ewolucji wypracowały jednak sposoby przełamania w/w barier przy użyciu szeregu mechanizmów. O patogenach takich mówimy jako o przystosowanych lub zaadaptowanych do danej rośliny (gospodarza). w odpowiedzi rośliny wytworzyły mechanizmy obronne oparte na rozpoznaniu specyficznego czynnika (efektora). Zjawisko takie nosi nazwę odporności indukowanej efektem ETI (ang. effector triggered immunity).

Właściwe rozpoznanie elicytora, wchodzącego np. w skład ściany komórkowej bakterii lub grzyba, zapoczątkowuje szereg reakcji, które mają na celu zwalczenie patogena próbującego wtargnąć do ustroju rośliny, bądź też uniemożliwić jego dalszą ekspansję. Działanie takie opiera się m.in. na działaniu pewnych wyspecjalizowanych białek enzymatycznych znanych jako białka PR (ang. pathogenesis related).

## 2. CEL BADAŃ

Celem przeprowadzonych badań było przetestowanie dostępnych genotypów pszenicy pod kątem ich wrażliwości na grzyby z rodzaju *Rhizoctonia*, w celu wyselekcjonowania materiału genetycznego charakteryzującego się obniżoną podatnością, który mógłby posłużyć do ewentualnej hodowli odpornościowej. Przeprowadzone badania miały również na celu scharakteryzowanie relacji roślina – patogen i rozpoznanie mechanizmów obronnych biorących udział w procesach ograniczania rozwoju patogenów.

Mając na uwadze tak sformułowany cel główny za cele szczegółowe przyjęto:

- zweryfikowanie w warunkach polowych i w teście bibułowym podatności odmian pszenicy na porażenie przez *R. cerealis* i *R. solani*,
- określenie wpływu badanych mikroorganizmów na podstawowe parametry biometryczne różnych genotypów pszenicy,
- określenie występowania i aktywności wybranych markerów enzymatycznych z grupy oksydoreduktaz oraz hydrolaz w odpowiedzi na grzyby z rodzaju *Rhizoctonia*,
- określenie zawartości metabolitów biologicznie aktywnych w procesach obronnych.



### 3. PRZEGLĄD LITERATURY

#### 3.1. Znaczenie pszenicy w Polsce i na świecie

Pszenica od wieków stanowi podstawowe źródło pokarmu dla człowieka. Wedle niektórych opracowań proces wprowadzania jej do uprawy szacuje się na epokę neolitu (ok. 10 000–12 000 lat p.n.e.), aczkolwiek człowiek już wcześniej zbierał ziarno dziko rosnących roślin na cele spożywcze. Najstarsze znaleziska na terenie Izraela wskazywały na zbieranie i przetwarzanie przez ludność zamieszkującą tamtejsze tereny (obejmujące region Żytnego Półksiężycza) ziaren *Triticum dicoccoides* ponad 19 000 lat temu (Nevo i in. 2002, Rachoń i in. 2011, Li i in. 2015). W toku procesu wprowadzania do uprawy, a następnie w procesach hodowlanych człowiek wyselekcjonował dwa główne typy pszenicy, które mają istotną wartość spożywczą. Są to pszenica zwyczajna (*T. aestivum* ssp. *aestivum*), i pszenica twarda (*Triticum turgidum* ssp. *durum* (Desf.) Husn.) (Baenziger i in. 2009). Mając na uwadze złożoność rodzaju *Triticum* inne mniej znane gatunki również mają pewne znaczenie gospodarcze, np. pszenica orkisz (*Triticum aestivum* ssp. *spelta* L.) czy pszenica płaskurka (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccum* (Schrank ex Schübl.) Thell.) z powodzeniem używane są w piekarstwie czy produkcji makaronów. Pokazuje to jak istotnym z punktu widzenia rozwoju cywilizacyjnego była, jest i niewątpliwie będzie pszenica (Peng i in. 2011).

Niemalże każdego roku w zestawieniu ogólnego areалу zasiewu zbóż w Polsce dominuje uprawa pszenicy zwyczajnej. Stanowi ona podstawowy gatunek roślin zbożowych uprawianych w Polsce i jest trzecią na świecie, obok ryżu i kukurydzy, biorąc pod uwagę areal oraz coroczne zbiory. Wedle danych GUS w roku 2016 łączny obszar zasiewów pszenicy wynosił ok. 2 364 tys. ha, w tym 1881 tys. ha dla formy ozimej i 483 ha dla formy jarej, co uplasowało ją na pierwszym miejscu wśród roślin zbożowych (dane GUS 2017). Ziarno pszenicy w 60% przeznaczane jest na mąkę (Rachoń i in. 2011). Na przykładzie ostatniej dekady zauważyć można jak bardzo istotna stała się produkcja pszenicy w samej tylko Polsce, gdyż z roku na rok powierzchnia zasiewów systematycznie rośnie. Ponadto daje się zauważyć, iż zdecydowaną większość upraw pszenicy w Polsce stanowią uprawy ozime. Utrzymujący się trend wynika w dużej mierze z uwarunkowań klimatycznych Polski. Problem upraw ozimych w kontekście strat powodowanych przez patogeny z rodzaju *Rhizoctonia* wynika z kolei z preferencji tych patogenów względem warunków termicznych, gdyż wykazują optymalny wzrost i rozwój w temperaturach poniżej 20°C. Mając na uwadze skalę produkcji oraz udział zbóż ozimych w rocznej produkcji, istotnym staje się potrzeba odpowiedniej agrotechniki oraz ochrony upraw przed patogenami.

### 3.2. Grzyby z rodzaju *Rhizoctonia* jako patogeny roślin

Grzyby zaliczane do rodzaju *Rhizoctonia* należą do mikroorganizmów licznie występujących w środowisku glebowym, we wszystkich strefach klimatycznych. Złożoność tego rodzaju wynika z jego wewnątrzgatunkowej różnorodności pod względem morfologicznym oraz przynależności do odpowiedniej grupy anastomozowej. Termin grupa anastomozowa oznacza zespolenie lub zdolność do wytwarzania połączeń pomiędzy strzępkami wynikający z podobieństw genetycznych, morfologicznych oraz specyficzności względem roślin żywicielskich (Drizou i in. 2017). Pierwszym kryterium w obrębie przynależności do odpowiedniej grupy jest liczba jąder komórkowych jakie występują w strzępkach (kariotyp). Pozwoliło to na wyodrębnienie trzech podstawowych grup klasyfikujących te mikroorganizmy ze względu na liczebność jąder komórkowych tj. szczepy wielojądrowe (ang. MNR - multinucleate *Rhizoctonia*, teleomorfa *Thanatephorus* i *Waitea*), dwujądrowe (ang. BNR - binucleate *Rhizoctonia*, teleomorfa *Ceratobasidium* i *Tulasnella*) oraz jednojądrowe (ang. UNR - uninucleate *Rhizoctonia*, teleomorfa *Ceratobasidium*) (Aiello i in. 2017). Co istotne, mikroorganizmy należące do tej samej grupy anastomozowej wykazują zdolność do interakcji somatycznych tzn. zdolne są do fuzji protoplastów. z kolei przynależność ta, tj. rodzaj grupy anastomozowej badanego szczepu, w dużej mierze definiuje rodzaj interakcji pomiędzy mikroorganizmem a rośliną (Willi i in. 2011). W obrębie samej grupy dwujądrowych (BNR) szczepów *Rhizoctonia* spp. dokonano podziału na 21 grup anastomozowych (Aiello i in. 2017). Z kolei mikroorganizmy wielojądrowe (MNR) z gatunku *R. solani* do tej pory zaklasyfikowano do co najmniej 14 różnych grup AG (od AG-1 do AG-13 oraz AG-B1) (Gill i in. 2001, Maculewicz 2015, Li i in. 2017, Kucharska i in. 2018, Ma i in. 2020 Moliszewska i in. 2020). W środowisku przyrodniczym jednocześnie występuje wiele grup anastomozowych, które mogą stanowić poważne zagrożenie dla roślin uprawnych, ozdobnych czy zbiorowiskach naturalnych, gdyż wykazując zdolności hiperpasożytnicze, prowadzą do poważnego osłabienia rośliny i w ostateczności jej zamierania jak np. *R. solani*, którego modelem działania jest wycieńczenie rośliny, lub mogą zachowywać się jak pasożyty biotroficzne (*R. cerealis*), czy też nie wykazywać jakichkolwiek działań wobec rośliny, albo występować jako komensal.

Grzyby z rodzaju *Rhizoctonia* występują jako patogeny, saprotrofy oraz symbionty (np. jako grzyby mikoryzujące dla niektórych gatunków staryczków), jak również bytujące na roślinach uważanych za chwasty (Doornik 1982, Sneh 1996, Arakawa i Inagaki 2014, Maculewicz 2015, Jiang i in. 2016, Choupannejad i in. 2017, Inokuti i in. 2019). Jako patogeny wyrządzają szkody w uprawach zbóż, okopowych, warzyw, w zbiorowiskach roślin trawiastych, w tym tych powstałych na użytek człowieka jak pola golfowe, murawy, boiska sportowe. Co więcej, są to patogeny nie tylko związane z uprawami polowymi, gdyż *R. solani* stanowi bardzo poważny

problem upraw szklarniowych (Kazempour 2004). Grzyby z rodzaju *Rhizoctonia* mają również znaczenie w uprawach zbóż. Sprawcą ostrej plamistości oczkowej jest *R. cerealis*, a także *R. solani* będący głównym sprawcą zgorzeli siewek wielu gatunków roślin. Dlatego też występowanie grzybów z rodzaju *Rhizoctonia* stanowi poważny problem w uprawach. Patogeny z tego rodzaju, bardzo często o szerokim spektrum roślin żywicielskich, są polifagami roślin zbożowych (pszenicy, pszenżyta, jęczmienia, żyta, owsa, kukurydzy), warzyw (ziemniaka, pomidora, ogórka, słonecznika, dyniowatych, warzyw strączkowych (groch, fasola)), buraka cukrowego, drzew owocowych, drzew leśnych, roślin ozdobnych czy ziół i roślin leczniczych, oraz wielu innych z wciąż wydłużającej się listy roślin, gdyż co roku odnotowywane są nowe rośliny żywicielskie (Herr 1995, Gutiérrez i in. 2007, Rosa i in. 2008, Lakshmi Devi i in. 2010, Sharon i in. 2011, Lemańczyk 2012, Erper i in. 2016, Choupannejad i in. 2017, Misawa i in. 2017, Moliszewska i in. 2020). Nadmienić należy, iż w przypadku kukurydzy ważnym patogenem jest też *Rhizoctonia zea*, gatunek porażający uprawy kukurydzy w cieplejszych rejonach świata (Gutierrez i in. 2007, Telmadarrehei i in. 2011). Zaobserwowano, że izolaty tego gatunku są w stanie przystosować się również do innych roślin żywicielskich o czym donosili Vajna i Oros (2005) izolując *R. zea* z porażonych roślin *Lolium perenne* oraz *Festuca* spp. z kolei uprawom ryżu zagraża zarówno *R. solani* jak i *Rhizoctonia oryzae*, czy *Rhizoctonia oryzae-sativae* (Lanoiselet i in. 2005).

Patogeniczne grzyby z rodzaju *Rhizoctonia* charakteryzujące się agresywnym przebiegiem patogenez, powodują zgorzele siewek, zahamowanie rozwoju młodych roślin, murszenie podstawy źdźbła, co w konsekwencji prowadzi do strat plonu. Doprowadzają do zaburzeń w obrębie transportu składników pokarmowych i wody, wewnętrznej maceracji tkanek, zniszczenia wiązek przewodzących, zachwiania homeostazy redoks, zachwiania w obrębie reakcji fotosyntezy. W efekcie porażenia przez *Rhizoctonia* straty w plonie ziarna zbóż mogą wynosić od 5% do 15%, a niektórzy badacze informowali nawet o 30% spadku plonu (Lemańczyk i Kwaśna 2013, Mahoney i in. 2017). Ponadto *Rhizoctonia* są w stanie do długotrwałego przetrwania na roślinnych resztkach poźniwnych i „wyczekiwania” na ewentualność pojawienia się odpowiedniej rośliny-gospodarza. Zarówno *R. solani* jak i *R. cerealis* potrafią przetrwać jako saprotrofy zasiedlając strefę korzeniową roślin. Dodatkowo mikroorganizmy te w dosyć szybkim tempie są w stanie wytworzyć sklerocja jako strukturę przetrwalnikową, która to zdolna jest do wytwarzania strzępek jeszcze kilka lat po uformowaniu skleroty. Kolejnym dużym utrudnieniem, wskazywanym przez badaczy z całego świata, jest fakt, iż patogeny te są kosmopolitycznymi mikroorganizmami występującym niemal w każdym zakątku świata, we wszystkich strefach klimatycznych, bytującymi nie tylko na roślinach o znaczeniu gospodarczym, użytkowym czy ozdobnym, ale nawet na roślinach uznawanych za chwasty i pomimo racjonalnej i poprawnej agrotechniki patogeny te stanowią poważne zagrożenie dla roślin uprawnych.

Dodatkowym utrudnieniem jest brak możliwości skutecznego zwalczania patogenów w środowisku występowania, w postaci interwencyjnych zabiegów chemicznych. Jak już wspomniano mikroorganizmy te są patogenami odglebowymi, bytującymi na resztkach poźniwnych, często stanowiących ich rezerwuar i tym samym będących potencjalnym źródłem infekcji dla kolejnych zasiewów (Kannaiyan 1988). Dlatego tak istotne jest odpowiednie zmianowanie, dobór odpowiednich odmian i ogólny wysoki poziom agrotechniki. Odpowiednio prowadzona prewencja stanowi o ewentualności występowania i nasilenia ognisk chorobowych w uprawach (Kurowski i in. 2009).

### **3.3. Ochrona roślin przed grzybami z rodzaju *Rhizoctonia***

#### **3.3.1. Metody konwencjonalne**

Mając na uwadze rosnące potrzeby populacji ludzkiej, ochrona upraw przed agrofagami, przy zachowaniu jak najwyższej jakości zbiorów, niesie za sobą wymóg racjonalnej agrotechniki, a co za tym idzie i ochrony. Niestety pomimo wdrożonych w 2014 roku zasad integrowanej ochrony roślin, które zakładają niejako pierwszeństwo wykorzystywania metod nie chemicznych (tj. grotechnicznych, biologicznych, fizycznych i innych nie chemicznych) przed ochroną chemiczną, korzystanie ze środków ochrony konwencjonalnej w dzisiejszych czasach dalej pozostaje pewną koniecznością, czy to w formie prewencyjnego zaprawiania nasion, czy też w formie oprysku interwencyjnego. Grzyby należące do *Rhizoctonia*, z racji swoich różnic w obrębie kariotypu i genotypu, stanowią bardzo złożony problem jeśli chodzi o ograniczanie ich rozwoju, nie wspominając o skutecznym zwalczaniu. Mnogość grup anastomozowych i związana z tym złożoność genetyczna stanowi duże wyzwanie dla badaczy z całego świata. Niestety pomimo wzmózonych prac nad tym problemem, nie uzyskano dostatecznie skutecznej metody interwencyjnego i prewencyjnego zwalczania patogena.

Jedną ze skuteczniejszych i zarazem najstarszych metod jest fumigacja wierzchnich warstw gleby bromkiem metylu, co w czasach integrowanej metody ochrony roślin oraz kiedy świadomość konsumencka oraz ekologiczna rolników, jak i samych konsumentów, jest bardzo wysoka, okazuje się metodą niedozwoloną i nieakceptowalną ze względu na swoją toksyczność i negatywny wpływ na środowisko. Metoda ta, pomimo swojej skuteczności została zakazana w 2006 roku (Claerbout i in. 2019). Innymi konwencjonalnymi środkami ochrony roślin, na które grzyby z rodzaju *Rhizocotonia* wykazywały wrażliwość były pentachloronitrobenzen (PCNB), karboksyna, iprodion, benomyl, chlorothalonil, triadimefon. Wedle doniesień Martina i in. (1984 a i b) analiza porównawcza podatności wytypowanych izolatów *Rhizoctonia* wskazywała na złożoność cechy podatności/odporności na wybrane substancje w badaniu *in vitro*. Dla przykładu *R. zeae* cechował się umiarkowaną

wrażliwością, a nawet tolerancją na benomyl w stężeniu 50 ppm, nie wykazywał natomiast jakiegokolwiek tolerancji wobec innych użytych fungicydów. Co więcej, stwierdzono, iż izolaty *R. solani* nie były odporne na działanie benomylu o stężeniu 10 ppm. Wszystkie izolaty były natomiast wrażliwe na iprodion w dawce poniżej 1 ppm. Ten sam zespół przeprowadził szereg doświadczeń wazonowych na kostrzewie trzcinowej (*Festuca arundinacea*) traktowanej tym samym zestawem fungicydów w odniesieniu do patogenów z rodzaju *Rhizoctonia*. Dowiedli oni, iż użycie wybranego środka ochrony roślin nie zawsze wiąże się z ograniczeniem rozwoju patogena, a wręcz przeciwnie. Zastosowanie benomylu spowodowało, że patogeny odznaczały się agresywniejszym przebiegiem patogenez i powodowały znacznie mocniejsze objawy chorobowe. Natomiast użycie PCNB nie ograniczało rozwoju *R. zea* i niektórych izolatów *R. solani*. w warunkach *in vitro*, najskuteczniejszą substancją aktywną okazał się iprodion. Badacze wskazali, że jego skuteczność zależała ściśle od zastosowanej dawki. Dawka, przy zastosowaniu której żaden z izolatów nie powodował jakichkolwiek objawów chorobowych było 1000 ppm substancji aktywnej.

Campion i in. (2003) wskazują na problem występowania różnych grup anastomozowych w uprawnych ziemniaka (AG-2-1, AG-3 i AG-5) i problem ich różnorodnego wpływu na rośliny, jak i różnorodnej oporności na wybrane, powszechnie wykorzystywane substancje aktywne – flutolanil, iprodion i pencycuron. Przeprowadzone badania *in vitro* wskazywały na wrażliwość wszystkich analizowanych grup anastomozowych na flutolanil i iprodion oraz umiarkowaną reakcję grupy AG-5 na pencycuron.

Problem ze zwalczaniem *R. solani* ma miejsce również w uprawach buraka cukrowego. Wykorzystanie azoksystrobiny i tebukonazolu jest jedną z wielu możliwości chemicznej ochrony roślin przed tymi patogenami. Jednakże wiąże się z wprowadzaniem sporych ilości środków chemicznych do środowiska (Kiewnick i in. 2001). Bolton i in. (2010) wskazują na podobny problem konwencjonalnej ochrony chemicznej buraka cukrowego. w swoich badaniach pokazują problem odpowiedniego doboru środka ochrony roślin, jak również niezbędnej wiedzy, kiedy można zastosować wybrany środek, tak by był on w stanie skutecznie ograniczyć występowanie patogenów. Wskazują również na istotny wpływ warunków atmosferycznych i siedliskowych w postaci wilgotności i temperatury na skuteczność działania wybranych środków przeciwko *Rhizoctonia*.

Wszystkie doniesienia pokazują jak trudnym zadaniem jest odpowiednie użycie chemicznych środków ochrony roślin w zwalczaniu patogenów z rodzaju *Rhizoctonia*. Nieodpowiedzialne, intensywne stosowanie środków chemicznych wiąże się nie tylko z niekorzystnym wpływem na środowisko przyrodnicze, ale także z dużym ryzykiem nabierania przez patogeny cech odporności na środki

chemiczne. Hamada i in. (2011) dowiedli w swoich badaniach możliwości nabierania cech odporności przez patogeny uzyskując kilka mutantów *Rhizoctonia*, o obniżonej podatności na iprodion, w wyniku ciągłego stosowania tej substancji. Uzyskane mutanty wykazywały cechy odporności na stężenia iprodion rzędu 100 µg/ml, kiedy tzw. izolaty dzikie były wrażliwe już na 1 µg/ml tej substancji. Co więcej, cecha ta utrzymywała się przez kolejne pokolenia. Nabieranie cech niewrażliwości na stosowane środki ochrony roślin jest więc realnym problemem w walce z tymi patogenami. Dodatkowym problemem stają się również pozostałości chemicznych środków ochrony roślin jakie kumulują się w glebie. Problem dotyczy zarówno negatywnego wpływu na mikrobiologiczną bioróżnorodność środowiska glebowego, jak również bezpośredniego wpływu skumulowanych związków chemicznych na kiełkujące nasiona roślin (Kucharska i Wachowska 2015, Stasiulewicz-Paluch i Wachowska 2015).

### 3.3.2. Biologiczna ochrona roślin

Nabierającą znaczenia alternatywą dla konwencjonalnego, chemicznego zwalczania patogenów z rodzaju *Rhizoctonia* jest wykorzystywanie biologicznych czynników ochrony roślin. w zależności od rodzaju takiego czynnika, tzn. czy jest to bakteria, promieniowiec, grzyb etc., zmienia się sposób samej walki z patogenami. w literaturze istnieje wiele doniesień na temat biologicznego zwalczania *Rhizoctonia* spp., od walki o niszę na drodze konkurencji, w którym to silniejszy, bardziej ekspansywny mikroorganizm wygrywa, poprzez bezpośrednie zwalczanie patogenów na drodze antybiozy czy pasożytnictwa (Maculewicz 2015).

Batemann i in. (2000) wskazują na rangę problemu i braku skutecznych konwencjonalnych środków ochrony roślin w walce z *Rhizoctonia*, co skłania wielu badaczy do odpowiedniego wykorzystywania mikroorganizmów jako metodę ochrony biologicznej w walce z patogenami roślin. Z mikroorganizmów mogących być wykorzystywanymi w takiej ochronie należy wymienić bakterie z rodzaju *Bacillus*, charakteryzujące się szybkim tempem wzrostu i działaniem ograniczającym występowanie grzybów patogenicznych na zasadzie zwalczania bezpośredniego na drodze m.in. litycznej oraz antybiotycznej (Mnif i in. 2016, Nagrodzka i in. 2016), czy zdolność tych mikroorganizmów do syntezy kwasu indolilo-3-octowego i stymulowania wzrostu roślin (Nabrdalik i Moliszewska 2017). Kolejnym, obiecującym biologicznym czynnikiem ochrony roślin zaliczanym do bakterii są szczepy z rodzaju *Pseudomonas* (*P. fluorescens*, *P. aureofaciens*, *P. aeruginosa* i inne), które charakteryzują się pewną skutecznością w ograniczaniu występowania *Rhizoctonia* (Cartwright i Benson 1995, Jung i in. 2007, Hwangbo i in. 2016, Vallabhaneni 2016, Pineda-Mendoza i in. 2018). Innym pożytecznym mikroorganizmem w ograniczaniu *Rhizoctonia* są Gram-ujemne, endofityczne bakterie *Pantoea agglomerans*, które mogą ograniczać wzrost *R. solani* (Barnett i in. 2006, Donmez i in. 2015, Nabrdalik

i in. 2018). Z kolei Yin i in. (2013) sugerują, iż to bioróżnorodność bakterii w strefie ryzosferowej, a zwłaszcza występowanie *Chryseobacterium soldanellicola* jest w stanie skutecznie ograniczyć wzrost *R. solani* AG-8.

Kasiamdari i in. (2002), Berta i in. (2005) oraz Buysens i in. (2015) informują o możliwości wykorzystania grzybów mikoryzujących z rodzaju *Rhizophagus* (dawniej *Glomus*) do ograniczania negatywnych efektów powodowanych przez grzyby z rodzaju *Rhizoctonia*. Jako że siedliskiem występowania tych grzybów jest ryzosfera, mogą one skutecznie uniemożliwiać rozwój patogenów na drodze oddziaływań konkurencyjnych i wypierania słabszego konkurenta (patogena) poprzez zajęcie odpowiedniej niszy blokując dostęp do składników pokarmowych. Kolejną grupą mikroorganizmów będącą w kręgu zainteresowania świata naukowego jako potencjalny biologiczny czynnik ochrony roślin są drożdże. Istnieje możliwość wykorzystywania niektórych drożdży do zwalczania odglebowych patogenów wykazujących antagonistyczne działanie wobec takich patogenów jak *R. cerealis* czy *Gaeumannomyces graminis*. Wachowska i Borowska (2014) wskazują na możliwość wykorzystania *Aureobasidium pullulans* var. *pullulans* i *Sporobolomyces roseus* w ograniczaniu rozwoju *R. cerealis* w uprawach pszenicy ozimej. Co więcej niektóre gatunki drożdży są w stanie przetrwać niekorzystne warunki środowiskowe jakimi są pozostałości konwencjonalnych środków ochrony roślin. Tym samym, drożdże mogą lepiej i dłużej sprawować funkcję ochronną dla roślin uprawnych (Stasiulewicz-Paluch i Wachowska 2015).

W literaturze dominują doniesienia, w których do ograniczenia rozwoju patogenów wykorzystuje się grzyby z rodzaju *Trichoderma*. Są one powszechnie występujące, o pasożytniczym modelu działania wobec innych grzybów (mykopasożyty), w tym patogenów roślin oraz indukują w roślinach procesy obronne. Jako że są to grzyby o szybszym wzroście od *Rhizoctonia*, bardzo szybko są w stanie ograniczyć populację tych patogenów. Ich właściwości fungistatyczne w odniesieniu do patogenów zaobserwowano już w latach 30-tych ubiegłego wieku. Chet i in. (1981) w badaniach *in vitro* zaobserwowali, że *Trichoderma hamatum* skutecznie hamowała rozwój grzybn *R. solani* oraz *Pythium* spp. Model działania *Trichoderma* opiera się na ograniczaniu rozwoju innych grzybów poprzez antagonistyczne oddziaływania o charakterze pasożytniczym, wypieranie w dążeniu o związki pokarmowe, antybiozę. Skuteczność wypierania i ograniczania innych mikroorganizmów, w tym tych patogenicznych z rodzaju *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium* i innych, pozwoliło na sformowanie użytecznych i wykorzystywanych w rolnictwie preparatów (biofungicydów) na bazie *Trichoderma*. Do najbardziej popularnych gatunków *Trichoderma* stanowiących czynnik aktywny biofungicydu należą *T. harzianum*, *T. atroviride*, *T. asperellum*, *T. hamatum*, *T. viride*, wchodzące w skład takich produktów jak T34 Biocontrol, Remedier WP, Virisan, Tusal, Binam TF WP, Rootschild WP, Trianium-P, Trianium-G oraz wielu innych

(Woo i in. 2014). Trillas i in. (2006) wykazali, iż odpowiednie użycie szczepu *T. asperellum* pozwoliło na ograniczenie występowania *R. solani* w uprawie ogórka. Ponadto uważają, że odpowiednio przygotowane podłoże, które może jednocześnie zawierać chorobotwórcze mikroorganizmy, wraz z suplementacją szczepami *Trichoderma* pozwala na skuteczne ograniczanie występowania ognisk chorobowych. Kolejny przykład skutecznego wykorzystania *Trichoderma* do zwalczania *R. solani* przedstawiła Nawrocka i in. (2018) traktując rośliny ogórka mykopasożytniczym szczepem *Trichoderma*. Takie „zaprawienie” rośliny pozwoliło na ograniczenie możliwości wtargnięcia *R. solani* do rośliny. Dodanie niepatogenicznego mikroorganizmu uruchomiło szereg reakcji obronnych w roślinie, co dodatkowo utrudniło rozprzestrzenianie się patogena. Zaobserwowano indukcję istotnych szlaków metabolicznych związanych z dekomponowaniem kalozy i wzmacniania struktury ściany komórkowej poprzez odkładanie lignin, a co za tym idzie indukcja kompleksów enzymatycznych związanych z tymi procesami (peroksydazy, dysmutazy, amoniakoliza L-feniloalaniny etc.) wskazuje, iż właśnie te mechanizmy mają istotny wpływ na zdolności obronne rośliny. Dodatkowo, szczepy *Trichoderma* w swoim mykopasożytniczym modelu ograniczania grzybów patogenicznych wykorzystują zdolność do sekrecji enzymów litycznych, tj. chitynaz, glukanaż, a nawet proteaz, co w konsekwencji uniemożliwia ich dalszy rozwój (dal Soglio i in. 1998, Koch 1998, Baek i in. 1999, Innocenti i in. 2003, dos Reis Almeida i in. 2007). Opisane przykłady wskazują, iż nakładające się działanie czynników takich jak szybkość zajęcia niszy ekologicznej i wyparcie z niej mikroorganizmu konkurencyjnego, uruchomienie reakcji obronnych w roślinie, mykopasożytniczy stosunek *Trichoderma* wobec mikroorganizmu patogenicznego pozwalają na skuteczne ograniczenie występowania niektórych patogenów z rodzaju *Rhizoctonia*.

Istnieją również doniesienia zakładające wykorzystanie hipowirulentnych (niepatogenicznych) szczepów *Rhizoctonia* w zwalczaniu patogenicznych szczepów *Rhizoctonia*, jak również innych istotnych pod względem wyrządzanych szkód patogenów należących np. do rodzaju *Fusarium* i *Pythium* (Muslim i in. 2003 a i b). w zależności od przynależności do grupy anastomozowej mikroorganizmów hipowirulentnych możliwe jest ograniczenie występowania i rozwoju patogenów (Harris i Adkins 1999). Model takiego działania może przybierać różną postać. Zakłada się konkurencyjne oddziaływanie pomiędzy patogenem a nie patogenem w dążeniu do zajęcia tej samej niszy ekologicznej oraz zasobów pokarmowych, Zaobserwowano również, iż niepatogeniczne szczepy *Rhizoctonia* obrastały zewnętrzną epidermalną warstwę korzenia, bez tendencji do wrastania do sub-epidermalnych komórek korzenia, co tym bardziej potęgowało oddziaływanie konkurencyjne pomiędzy mikroorganizmami, jednocześnie uniemożliwiając patogenom na wniknięcie wewnątrz korzeni (Sharon i in. 2011). Ponadto upatruje się indukcji mechanizmów obronnych w roślinach traktowanych niepatogenicznymi szczepami co tym samym utrudnia lub wręcz uniemożliwia



patogenom wtargnięcie do rośliny i ich rozwój, do których to mechanizmów zalicza się indukcję aparatu chitynolitycznego, indukcję mechanizmów lignifikacji i ogólnego wzmacniania struktury ściany komórkowej poprzez odkładanie celulozy, hemicelulozy, rodników fenolowych i innych (Sneh 1996). Sharon i in. (2011) wskazują, iż model działania niepatogenicznych, hipowirulentnych *Rhizoctonia* ma podłoże indukowania aparatu chitynolitycznego w postaci enzymów z grupy  $\beta$ -1,3-glukanaz, chitynaz, enzymów z grupy oksydoreduktaz (w tym np. peroksydazy), czy amoniakolizy L-fenyloalaniny (PAL) jako mechanizmu wzmacniania ścian komórkowych, jak również pobudzenie szlaków metabolicznych związanych z odkładaniem pektyn i suberyn.

Wspólnym mianownikiem wszystkich przytoczonych przykładów wykorzystywania biologicznych czynników ochrony roślin jest fakt indukowania odporności systemicznej (SAR) w obrębie ustroju. Xue i in. (1998) dowiedli, że odpowiednio wczesne introdukowanie do środowiska niepatogenicznego (hipowirulentnego) szczepu *Rhizoctonia* powodowało indukcję mechanizmów nabytej systemicznej odporności pod postacią wzmoczonej aktywności enzymatycznej endo- i egzo- chitynaz, glukanaz oraz peroksydaz w roślinach fasoli. Tym samym obecność takiego mikroorganizmu skutkowałą zmniejszeniem objawów chorobowych i kilkukrotnym zwiększeniem aktywności badanych enzymów. Hassan i in. (2014) dowiedli, iż możliwe jest wykorzystywanie niepatogenicznych szczepów *Rhizoctonia* do ograniczania występowania *R. solani* i powodowanych przez nią strat w uprawie ogórka. Zaobserwowano, że odpowiednio wczesne „zaprawienie” siewek niepatogenicznym szczepem pozwoliło na istotne ograniczenie objawów chorobowych. Zauważono, iż użycie takiego szczepu znacząco zmniejszyło wytwarzanie struktur infekcyjnych (appresorium) przez patogeniczne *R. solani*. Do podobnych wniosków doszli Elsharkawy i in. (2014) oraz Hassan i in. (2015) traktując siewki ogórka niepatogenicznym, dwujędrowym izolatem *Rhizoctonia* AG-A. Dowiedli, że już po 12 godzinach dochodziło do kolonizacji zewnętrznej warstwy korzenia przez hipowirulentny szczep, uniemożliwiając tym samym rozwój patogenicznego izolatu *R. solani* AG-4. Stwierdzono ponadto liczne deformacje w strukturze grzybni *R. solani* w przypadku gdy odpowiednio wcześniej introdukowano mikroorganizm niepatogeniczny oraz zauważono wzmoczoną produkcję pektyn przez roślinę żywiciela, w skład których wchodziły metylowane pektyny oraz znaczną zawartość kwasów uronowych, wykazujących działanie lityczne na ściany komórkowe grzybów, jak również stwierdzono wzmoczony transport jonów wapniowych. z kolei Harris i Adkins (1999) zaobserwowali, że niepatogeniczne, dwujędrowe izolaty *Rhizoctonia* skutecznie hamowały rozwój *R. solani* w doświadczeniach szklarniowych, zarówno w sterylnym jak i niesterylnym podłożu. Co więcej, zaobserwowano, iż w obecności patogenicznego izolatu *R. solani* obecność szczepu niepatogenicznego skutkowałą pobudzeniem wzrostu w strefie włośnikowej korzeni papryki. Webb i in. (2015) wykorzystali natomiast dwa

niepatogeniczne względem buraka cukrowego izolaty *R. zea* w biologicznej ochronie przed patogenami odglebowymi. w badaniach *in vitro* zaobserwowali, że oba izolaty skutecznie hamowały rozwój *R. solani* AG-2-2IIIB, *F. oxysporum* f. sp. *betae*, *Phoma betae* czy *Pythium aphanidermatum*.

W mniejszym stopniu zaznacza się występowanie działań zwalczania bezpośredniego na drodze mykopasożytnictwa, jak ma to miejsce przy grzybach z rodzaju *Trichoderma*, czy bakteriach z rodzaju *Bacillus*, gdzie jako model działania występuje sekrecja enzymów litycznych względem ściany komórkowej patogena jak również proteolitycznych. Ponadto, założenia ochrony biologicznej jako bezpośredniego sposobu zwalczania patogenów wymaga pewnej zgodności pomiędzy samą rośliną gospodarzem oraz mikroorganizmem niepatogenicznym. Zaobserwowano również, iż mikroorganizmy takie mogą dodatkowo stymulować wzrost i rozwój roślin, co tym mocniej przekłada się na ich zdolności obronne, poprzez fakt lepszej kondycji. Przykładem może być zdolność takiego mikroorganizmu do transformacji fosforanów, tak by stały się one bardziej dostępne dla roślin. Ponadto mogą wykazywać możliwości produkcji związków o charakterze fitohormonalnym (Fatima i in. 2008). Mikroorganizmy takie można nawet zaklasyfikować do grupy mikroorganizmów PGPM (ang. plant growth promoting microorganisms). Jeśli więc rozpatrywać ochronę biologiczną jako sumaryczny efekt wpływu tych czynników - ochrona niszy, pobudzanie wzrostu i rozwoju roślin, pobudzanie mechanizmów fizjologicznych, pobudzanie mechanizmów obronnych może stanowić istotną alternatywę dla konwencjonalnej ochrony roślin, charakteryzującym się mniejszym wpływem na środowisko przyrodnicze.

Niestety ochrona biologiczna ma swoje ograniczenia. Fakt wykorzystywania żywego mikroorganizmu w celu zwalczania innego, groźniejszego wymaga zaznajomienia się z naturą samego patogena, jego cyklem rozwojowym, wymaganiami siedliskowymi i pokarmowymi oraz relacji z rośliną gospodarzem. Wprowadzanie nowych mikroorganizmów do środowiska może wiązać się z zaburzeniem występującej równowagi w danej agrocenozie. Dodatkowym problemem jest sama mnogość grup anastomozowych wśród *Rhizoctonia*, co wiąże się z prawdopodobieństwem wystąpienia fuzji pomiędzy występującym w środowisku, docelowym patogenem, którego chcemy zwalczyć, a użytym biologicznym czynnikiem ochrony roślin, które mogą wykazywać pewną zgodność biologiczną. Kolejnym ograniczeniem jest wymóg, aby użyty mikroorganizm nie wykazywał jakichkolwiek cech patogenicznych, nawet w warunkach ubogich pod względem dostępności biogenów, czy ogólnie niekorzystnych. Innymi słowy nie może wykazywać charakteru oportunistycznego w celu osiągnięcia podstawowych korzyści z relacji z rośliną i wykazywać negatywny wpływ na roślinę gospodarza, poprzez hamowanie jej wzrostu i rozwoju, powodowanie deformacji rozwojowych, powodowanie zaburzeń w szlakach metabolicznych, czy wykazywania innych podobnych do patogenicznych zjawisk w odniesieniu

do rośliny. Tym samym siedlisko, w którym ma być wykorzystywany taki biologiczny czynnik nie może indukować takich cech. Dodatkowo istotnym jest odpowiedni dobór materiału siewnego do danego siedliska, tak aby rozwój roślin był możliwie optymalny. Wiąże się to z koniecznością zaklasyfikowania kompleksu glebowego w miejscu uprawy i na tej podstawie dopasowanie odpowiednich odmian. Ponadto skuteczne działanie biologicznego środka ochrony roślin w danym siedlisku związane jest nie tylko z oddziaływaniem o podłożu biotycznym (patogen-nie patogen, roślina-patogen etc.), ale również ściśle zależne od ilości i natężenia czynników o charakterze abiotycznym tj. temperatury, dostępności wody, pH (Santamarina i Rosellò 2006).

### **3.3.3. Problem wrażliwości roślin na patogeny z rodzaju *Rhizoctonia***

Rośliny użytkowane gospodarczo na cele spożywcze mogą być atakowane przez wiele patogenów, z czego szacuje się, że ok. 20 stanowi poważne zagrożenie dla upraw (McIntosh 1998, Ma i in. 2020). Mając na uwadze skalę produkcji, nie tylko samej pszenicy, ale też i innych zbóż bardzo istotny staje się problem ich ochrony. Jednocześnie skala globalnego transportu towarów, produktów rolnych, a nawet podróżowanie ludzi (ruch turystyczny) powoduje ciągłe, mimowolne rozprzestrzenianie się patogenów roślin. Pomimo regulacji fitosanitarnych i rygorystycznego podejścia wobec możliwości transportu wielu towarów/produktów rolnych, czy zakazu przewozu roślin, ich części lub nasion, w ruchu turystycznym, niemożliwe jest całkowite ograniczenie rozprzestrzeniania się patogenów. Problemem narasta, gdy rośliny nie mające nigdy wcześniej kontaktu z nowo zawleczonym patogenem okazują się na niego wysoce wrażliwe. W tym momencie jedyną możliwością ograniczenia skutków porażenia staje się konwencjonalna ochrona chemiczna roślin, co mimo wszystko wiąże się z wysokimi nakładami finansowymi oraz negatywnym wpływem na środowisko przyrodnicze (Goswami i in. 2019). Ponadto nie zawsze jest ona wystarczająco skuteczna, a czasem nawet niewykonalna. Jako że ostatnie dekady w rolnictwie upłynęły pod znakiem intensywnej chemizacji procesu produkcji, współcześnie niemożliwym staje się podobne podejście do upraw roślin. Wraz z wprowadzeniem integrowanej ochrony roślin wymagana jest uprawa roślin warunkująca zmniejszony negatywny wpływ na środowisko przyrodnicze poprzez racjonalne nawożenie roślin, ich ochronę (zarówno konwencjonalną – chemiczną, jak i biologiczną), oraz co istotne, odpowiedni dobór biologiczny (Salameh i in. 2011).

To, w jaki sposób dany genotyp jest w stanie rozwijać się w danym siedlisku, czy jest w stanie odpowiednio wykorzystywać jego zasoby (makro i mikroelementy), a ponadto przeciwstawiać się patogenom, zależy od dostępnych mechanizmów uwarunkowanych genetycznie, tj. czy posiada odpowiedni gen, lub cechę/zestaw genów. Istotnym zatem staje się dobór

odpowiednich odmian uprawnych. Otrzymanie linii hodowlanej czy rodu charakteryzującego się obniżoną wrażliwością na dany patogen wymaga rygorystycznego podejścia do metody hodowli. Hodowca w procesie pozyskiwania roślin o pożądanym cechach musi wykazywać się znajomością cyklu rozwojowego wybranego patogena, dzięki czemu możliwe będzie indywidualne podejście w procesie hodowlanym. Ponadto istotnym jest czy wrażliwość rośliny na dane patogeny czy szkodniki warunkowana jest poligenowo, czy też warunkowana jest pojedynczym genem i czy jest dziedziczna (McIntosh 1998). Dodatkowym problemem w uzyskiwaniu roślin pszenicy opornych na działanie gatunków *Rhizoctonia*, jest brak dostępnych genotypów charakteryzujących się zadowalająco niską wrażliwością na te patogeny, a które mogłyby posłużyć w procesie hodowlanym jako źródło cech odporności (Wu i in. 2017). Wszystkie pozyskane dotychczas genotypy pszenicy wykazują pewną wrażliwość na patogeny z rodzaju *Rhizoctonia* (McIntosh 1998, Okabura i in. 2009, Mahoney i in. 2017). Kluczowe jest, aby pozyskać taki materiał genetyczny dzięki któremu możliwe będzie ograniczenie występowania ognisk chorobowych, zmniejszenie potrzeby korzystania ze środków konwencjonalnej chemicznej ochrony roślin oraz, co najważniejsze, zmniejszenie potencjalnych strat w uprawach roślin.

Dotychczas jako najmniej wrażliwą na patogeny z rodzaju *Rhizoctonia* wskazuje się gatunek *Dasypyrum villosum*, jednakże cechy odporności nie udało się dotychczas przenieść w procesach hodowlanych do roślin pszenicy o charakterze uprawnym (Okabura i in. 2009). Z kolei najlepsze cechy odporności na patogeny jakie udało się wprowadzić do genomu pszenicy poprzez procesy hodowlane pochodzą z żyta (*Secale cereale*), czy takich przedstawicieli *Poaceae* jak *Thinopyrum elongatum*, *Thinopyrum intermedium*, *Elytrigia intermedia* oraz *Aegilops ventricosa*, *Aegilops neglecta*, *Aegilops geniculata* (Owuochi i in. 2003, Li i in. 2005, Chapman i in. 2008, Chen i in. 2008, Baenziger i in. 2009, Ren i in. 2018). Dodatkowo przypuszcza się, że cecha lub też cechy warunkujące odporność na te patogeny może rozwijać się równolegle, tzn. roślina wykazująca obniżoną podatność na *R. solani* może wykazywać również niewrażliwość na *R. cerealis* (Lemańczyk 2012).

Do tej pory nie zidentyfikowano konkretnego czynnika jaki mógłby warunkować jednoznacznie odporność na te patogeny. Niektórzy autorzy sugerują istotność występowania genów kodujących enzymy chitynolityczne w ograniczaniu rozwoju tych patogenów. Geny występujące w genotypach ryżu czy innych wiechlinowatych, które kodowały chitynazy I i II klasy warunkowały mniejszą podatność roślin na *R. solani* (Lin i in. 1995, Rajesh i in. 2016). Przykładem jest gen *Zjchi2* z dzikiego genotypu przedstawiciela wiechlinowatych *Zoysia japonica* kodujący chitynazę klasy II, który poddany nadekspresji w zmodyfikowanym genetycznie przedstawicielu tego samego

gatunku warunkował obniżoną podatność na *R. solani* (Kang i in. 2017). Kolejnym przykładem były białka kodowane przez gen *TaPIEPI* biorące udział w indukowanym szlaku etylenowym i jasmonowym jako odpowiedzi na patogeny, których wzmożona ekspresja była skorelowana z obniżoną wrażliwością roślin na patogeny (Dong i in. 2010, Wang i in. 2015). Z kolei Li i in. (2011) dowiedli, iż równie istotnymi są białka kodowane przez gen *RsAFP2* jakie wprowadzili do gnomu pszenicy. Białko to jest małą molekułą, bogatą w reszty cysteinowe, które reagowało z błoną komórkową grzybni powodując zmiany kierunku przepływu jonów i modyfikując tym samym potencjały ładunków w obrębie błony komórkowej, co utrudniało rozwój komórek grzybni. Innym przykładem jest z kolei inhibitor enzymu depolimerazy pektynowej (poligalaturonazy) jaką produkuje *R. solani* w procesie patogenezy. Enzym ten, kodowany przez gen *RsPG2*, bierze aktywny udział w lizie ścian komórkowych roślin prowadząc do powstawania zmian nekrotycznych (Li i in. 2012, Chen i in. 2017).

Jako odpowiedź na wyżej opisany czynnik, rośliny w toku ewolucji wypracowały inhibitor depolimerazy, będący peptydem o małej masie molekularnej, zdolnym do inhibicji enzymów grzybów, tym samym hamując jego przerastanie wewnątrz ustroju rośliny. Janni i in. (2008) dowiedli, iż transgeniczne rośliny pszenicy posiadające w swoim genomie gen *PvPGIP2* kodujący wymieniony wcześniej inhibitor są w stanie skutecznie przeciwstawić się patogenom. Innym przykładem jest gen *TaCAD12* kodujący dehydrogenazę alkoholu cynamyłowego (CAD) biorącego udział w syntezie elementów budulcowych ściany komórkowej, jak również odpowiedzi na działanie patogenów. Zaobserwowano, że rośliny pszenicy wytłumione pod względem ekspresji tego genu były podatne na działanie *R. cerealis* (Rong i in. 2016). Innym przykładem jest gen *TiERF1* pochodzący z gatunku *Thinopyrum intermedium*. Wskazany gen koduje białko biorące udział w procesie odpowiedzi komórki oparty o szlak etylenowy. W ramach tej odpowiedzi dochodzi do pobudzenia ekspresji genów kodujących defensyny z klasy chitynaz i  $\beta$ -1,3-glukanaz, co przekłada się na lepsze zdolności obronne wobec *R. cerealis* (Chen i in. 2008). Z kolei obecność genu *TaRIM1*, odpowiedzialnego za regulację ekspresji kilku defensyn pszenicy m.in. z klasy PR10, PR17 czy chitynazy 1, przekładała się na lepsze zdolności obronne roślin na działanie *R. cerealis* (Shan i in. 2016). Wymienione geny łatwo przechodzą w procesach hodowlanych do docelowego genotypu jak również łatwo podlegają piramidyzacji (Leonard i in. 2008, Meyer i in. 2011, Chen i in. 2013, Pasquariello i in. 2017). Kwestią otwartą pozostaje czy fungistatyczne działanie cech czy czynników warunkujących pewną obniżoną podatność na patogeny z rodzaju *Rhizoctonia*, wynika z działania pojedynczej, cechy czy też jest to kwestią synergistycznego działania kilku cech oporności, zarówno tych

opisanych/zbadanych, jak i tych które nie zostały do tej pory w pełni zidentyfikowane.

### **3.3.4. Markery odporności w walce z patogenami i ich wewnątrzustrojowe modele działania**

Hodowla odpornościowa stanowi alternatywę dla wszelkich aktywnych sposobów ochrony roślin. Charakteryzuje się mniejszymi nakładami finansowymi jak i energetycznymi w porównaniu do jakichkolwiek zabiegów interwencyjnych czy zapobiegawczych. Koncepcja racjonalnej ochrony roślin wynika m.in. z wykorzystania odpowiednio dobranego materiału siewnego o pożądanym cechach uwarunkowanych genotypowo względem czynników biotycznych i abiotycznych powodujących lub mogących powodować straty w danym siedlisku. W toku ewolucji rośliny przystosowały się do odbierania bodźców i wypracowały mechanizmy odpowiedzi na zadane bodźce. Szczególne znaczenie, z punktu widzenia człowieka, ma sposób reakcji na bodźce pochodzenia biologicznego w postaci patogenów. Podwaliny naukowe stworzył dla hodowli roślin już Mendel, natomiast samo pojęcie i znaczenie hodowli odpornościowej rozwinął Biffen. To w jaki sposób roślina jest w stanie zareagować na występowanie patogenów w jej otoczeniu w dużej mierze stanowi o jej przetrwaniu. Mechanizmy takie mogą przybierać postać taką jak wykształcenie trudnych do przebicia barier w budowie morfologicznej organów, w tym skład jakościowy i ilościowy ściany komórkowej, roślinna reakcja na komponenty budulcowe patogena, reakcja na wniknięcie mikroorganizmu patogenicznego do ustroju, mechanizmy wzmacniania struktury ściany komórkowej.

Bezpośrednie i pośrednie wewnątrzustrojowe mechanizmy zwalczania patogenów to tylko niektóre z wielu przykładów w jaki sposób roślina może zareagować. Intensywność tej reakcji i jej złożoność w dużej mierze zadecyduje czy dany osobnik jest w stanie przetrwać atak patogena, ograniczyć jego oddziaływanie, choćby do momentu wytworzenia i wydania nasion, lub też czy jest w stanie „ostrzec” inne pobliskie osobniki swojego gatunku (external signaling) za pomocą wydzielanych metabolitów o lotnym charakterze, co jest istotne pod względem nie tyle przetrwania osobnika, ale przetrwania populacji danego gatunku. Jednym z takich elementów są wytypowane w toku wieloletnich obserwacji i badań specyficzne dla interakcji roślina-patogen markery białkowe i niebiałkowe tj. metabolity powstałe w czasie trwania procesów obronnych, jak również zawartość niektórych metabolitów, które pozwalają określić w jakim stanie fizjologicznym jest roślina.

Od wielu lat wskazuje się na korelację pomiędzy obecnością i aktywnością pewnych enzymów z grupy defensyn a rzeczywistą odpornością na wybrane patogeny. w zależności od samego charakteru patogena, jego pochodzenia, składu ściany komórkowej, występowania pewnych elementów w jej strukturze (glikoproteiny itp.), mechanizmu patogenez, aktywowane są różne

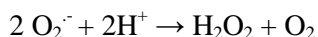
mechanizmy a tym samym różne grupy defensyn do walki bezpośredniej jak i szlaków o pośrednim działaniu. Białka PR (ang. pathogenesis related) to enzymy biorące aktywny udział w procesach związanych z ograniczeniem rozwoju patogenów (Iqbal i in. 2019). W grupie tej znajduje się wiele enzymów związanych ze zróżnicowanymi szlakami metabolicznymi biorących udział zarówno w bezpośrednim zwalczaniu czy też hamowaniu rozwoju patogenów rozprzestrzeniających się wewnątrz ustroju rośliny, jak również walki pośredniej, lub też wspomagające szlaki metaboliczne aktywowane w czasie trwania patogenez. Zaklasyfikowano 17 rodzin białek PR (od PR-1 do PR-17), do których to przypisane są białka i enzymy zaliczane do chitynaz (endo- i egzo-), glukanaz (endo- i egzo-), peroksydaz i innych enzymów klasy oksydoreduktaz, proteaz (Devaiah i Shetty 2009).

Jako białka/enzymy walki bezpośredniej można wymienić enzymy z klasy hydrolaz biorących udział w rozkładaniu ścian komórkowych patogenów, grzybowych czy też bakteryjnych. Endo- i egzo-chitynazy (EC 3.2.1.14),  $\beta$ -1,3-glukanazy (EC 3.2.1.39) roślin biorące udział w litycznym rozkładzie ścian komórkowych patogenów, na zasadzie rozkładu wiązań  $\beta$ -1,4- czy  $\beta$ -1,3-pomiędzy usieciowanymi resztami n-acetyloglukozoaminy wchodzących w skład ściany komórkowej grzyba, jednocześnie stanowiącą jej główny budulec (Mauch i in. 1988, Kasprzewska 2003, Wang i in. 2012). Szybkość ekspresji genów kodujących te enzymy, jak i mnogość tego typu enzymów (w postaci licznych form izoelektrycznych) może skutecznie utrudnić rozprzestrzenianie się patogenów w roślinie. Co więcej, wiadomym jest fakt, iż enzymy te wykazują działanie synergistyczne. Sumaryczna aktywność o charakterze chitynolitycznym, czy ogólnie litycznym wobec elementów budulcowych patogena, wiąże się z większą przeżywalnością roślin. Shrestha i in. (2008) wskazują, że to właśnie wysoka aktywność chitynolityczna wewnątrz ustroju rośliny warunkowała podatność odmian ryżu na *R. solani*. Przeprowadzone badania pozwoliły na określenie korelacji pomiędzy zwiększoną aktywnością chitynaz a mniejszym nasileniem objawów chorobowych w pierwszych 72 godzinach po inokulacji roślin.

Niestety w myśl działania modelu zygzyka, tj. występowania pewnej specyficznej odpowiedzi na zadany czynnik, patogeny przystosowały się do przełamania systemów obronnych roślin. Przykładem może być wzmożona aktywność proteolityczna jaką wykazują patogeny w odpowiedzi na białka PR o modelu zwalczania bezpośredniego. To z kolei przekłada się na większą aktywność proteolityczną ze strony rośliny. Bardzo istotnym pod względem możliwości przeciwstawiania się patogenom jest zjawisko nagłego, kaskadowego pojawiania się reaktywnych form tlenu (RFT) w roślinie. Zjawisko to nazwane jest wybuchem oksydacyjnym, któremu towarzyszą procesy wzmożonej produkcji molekuł jak tlen singletowy, anionorodnik ponadtlenkowy, jon hydroksylowy czy nadtlenek wodoru (Wojtaszek 1997, Velikova i in. 2000, Bhattacharjee 2005, Patykowski 2008). Wzmożona produkcja tych molekuł wiązana jest w wieloma istotnymi procesami, które

w dużej mierze stanowią o możliwości przetrwania rośliny wystawionej na działanie stresora o podłożu biotycznym czy abiotycznym. Są to związki o działaniu regulatorowym, warunkujące ekspresję niektórych genów, czy działanie o charakterze cytotoksycznym zarówno dla komórek patogenów jak również komórek roślinnych w ramach reakcji nadwrażliwości (HR) i indukowanej apoptozy (Patykowski 2008).

Innymi enzymami równie istotnymi w procesach przeciwstawiania się patogenom są enzymy z klasy oksydoreduktaz biorących czynny udział w procesach wybuchu oksydacyjnego oraz przeciwdziałania jego skutkom. Udział RFT w procesach obronnych od wielu lat jest przedmiotem dogłębnych badań. Istnieje zależność pomiędzy wysokim stopniem generowania RFT jak i całkowitej aktywności aparatu antyoksydacyjnego w tkankach roślin, a podwyższoną tolerancją na patogeny (Khaledi i in. 2016). Innym istotnym mechanizmem w regulacji działania RFT jest poziom aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) (EC 1.15.1.1) jaką rośliny wykazują w ustroju. Są to podzielone na trzy grupy metaloproteiny, które mogą wykorzystywać jako kofaktory jony metali żelaza (Fe SOD), manganu (Mn SOD), oraz miedziowo-cynkowe (Cu-Zn SOD) (Gupta i in. 1993, Alscher i in. 2002). Występują w strukturach komórkowych, w których zachodzą jakiegokolwiek reakcje transportu elektronów tj. mitochondria, chloroplasty, mikrosomy, peroksosomy, apoplast, cytozol itp. Pojawiły się w toku ewolucji od momentu przystosowania roślin do warunków tlenowych panujących na powierzchni Ziemi (Alscher i in. 2002). Ich głównym zadaniem jest przeciwdziałanie toksycznemu działaniu  $O_2^-$ . Jako że jest to molekula silnie reagująca z różnymi związkami biologicznymi (DNA, proteiny, lipidy oraz inne komponenty komórkowe), prowadząca do ich nieodwracalnego uszkodzenia, istotnym jest działanie mechanizmu rozkładu  $O_2^-$  zachodzącego wedle reakcji (Bowler i in. 1992, Scandalios 1993):

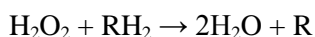


SOD stanowią pierwszą linię obrony przeciwko działaniu  $O_2^-$ , zarówno w trakcie trwania homeostazy redoks, czy w momencie wystąpienia zjawiska wybuchu oksydacyjnego i lawinowego pojawiania się reaktywnych form tlenu. Co więcej w sytuacji ustawicznego stresu i stałego, wysokiego stężenia anionorodnika ponadtlenkowego, ich właściwe działanie jest niezbędne w celu detoksykacji i przetrwania rośliny. Pomijając fakt udziału enzymu w detoksykacji czy ogólnej kontroli ilości RFT w tkankach, bardzo istotnym jest, że tego typu molekuly (RFT) biorą udział w reakcjach HR (ang. hypersensitive response) i regulowania procesów apoptozy w miejscu infekcji i tworzenia miejsc o charakterze nekrotycznym stanowiących barierę dla patogenów uniemożliwiają im dalsze rozprzestrzenianie wewnątrz ustroju (Urbanek i in. 1996). Ponadto, pomijając rolę w regulacji procesów apoptozy, przypisuje się im rolę informacyjną dla sąsiadujących komórek (Asthir i in. 2011). Dodatkowo niektórzy autorzy sugerują występowanie mechanizmu



podobnego do wykazywanego przez fagocyty wewnątrz komórek ssaków, tj. bezpośrednią interakcję z mikroorganizmami patogenicznymi i ich zwalczanie na drodze konwersji anionorodnika ponadtlenkowego do nadtlenu wodoru przez oksydazy zakotwiczone w błonie komórkowej mikroorganizmów patogenicznych (Bowler i in. 1992). Przypuszcza się, że szybkość i ilość generowanych reaktywnych form tlenu, jak również cały mechanizm nadzoru nad tymi procesami, może mieć kluczowe znaczenie w obronie przed patogenami o charakterze neurotroficznym, jakimi są grzyby z rodzaju *Rhizoctonia* (Paranidharan i in. 2003, Foley i in. 2016).

Peroksydaza (EC 1.11.1.7) określana jest jako jeden z ważniejszych kompleksów enzymatycznych biorących udział nie tylko w procesach patogenez, ale również w podstawowym funkcjonowaniu rośliny. Jako enzym katalizujący rozkład m.in.  $H_2O_2$  w tkankach roślin, wraz z katalazą (CAT) i SOD, warunkuje również stan równowagi homeostazy redoks według reakcji (Passardi i in. 2004):

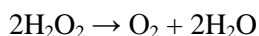


$RH_2$  – substrat fenolowy, R – rodnik fenolowy

Mnogość izoform występujących w ustroju rośliny świadczy o szerokim wyspecjalizowaniu kompleksu enzymatycznego i jego przystosowaniu do utleniania różnych substratów biorących udział w wielu szlakach metabolicznych, w tym tych związanych z wybuchem oksydacyjnym. Enzymy te podzielone są na 3 klasy o różnym ewolucyjnym podłożu, zlokalizowane w cytozolu (Klasa I), apoplacie czy zakotwiczone w błonach i ścianach komórkowych (Klasa III). Biorą udział w procesach wzmacniania struktury ściany komórkowej oraz rozkładu i produkcji  $H_2O_2$  (Østergaard i in. 2000, Patykowski 2008, Devaiah i Shetty 2009). Wskazuje się również na istotność szybkości wzmacniania struktury ściany komórkowej w walce rośliny z patogenami z rodzaju *Rhizoctonia*. Wzrost aktywności peroksydazy (oznaczanej wobec gwajakolu czy pirogallolu), pojawianie się nowych form izoenzymatycznych świadczy, iż może być to jeden z ważniejszych markerów jakie biorą udział w zwalczaniu *Rhizoctonia*. Dodatkowo wskazuje się na dodatnią korelację pomiędzy wysoką aktywnością i mnogością form izoenzymatycznych, a zmniejszoną podatnością na różne patogeny. Stwierdzono m.in. istotność tej klasy enzymów w odporności roślin pomidora na takie patogeny jak *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora capsici*, soi na *Phytophthora sojae*. Ponadto stwierdzono zmniejszoną podatność roślin pszenicy charakteryzującej się wysoką aktywnością peroksydaz na *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* (Melgar i in. 2006). Z kolei Devaiah i Shetty (2009) dowiedli, iż wysoka aktywność podstawowa, tj. roślin nie pobudzanych

jakichkolwiek stresorem oraz szybki wzrost aktywności (60% w porównaniu do bazowej) w odpowiedzi na inokulum *Sclerospora graminicola*, była skorelowana z wysoką odpornością roślin prosa na patogen. Stwierdzono również wzrost aktywności peroksydaz w roślinach chmielu atakowanych przez *Tetranychus urticae* (Trevisana i in. 2003), jak również inne agrofagi, gdyż bierze aktywny udział w procesach naprawiania uszkodzeń mechanicznych tkanek (Minibayeva i in. 2015).

Katalaza (EC 1.11.1.6) jest enzymem katalizującym proces degradacji  $H_2O_2$  powstającego w komórkach poddanych działaniu stresora w ramach zjawiska wybuchu oksydacyjnego. Rozkład nadtlenu wodoru postępuje w ramach reakcji dysproporcjonacji (Patykowski 2008):



Wraz z dysmutazą ponadtlenkową, peroksydazami warunkuje równowagę wewnątrzustrojową redoks. Często skorelowana z wysoką aktywnością pozostałych dwóch enzymów warunkuje właściwy przebieg m.in. procesów związanych ze zjawiskiem wybuchu oksydacyjnego. To w jaki sposób roślina jest w stanie poradzić sobie z patogenem, czyli cecha warunkowana genotypowo, może dać podwaliny pod linię hodowlaną o pożądanym cechach obniżonej podatności, co z kolei może skutkować powstaniem nowych, odpornych odmian. Ma to o tyle duże znaczenie, iż wpisuje się w koncepcję ogólnie przyjętej ochrony integrowanej, w której oprócz profilaktyki i właściwej agrotechniki istotnym elementem jest właściwy dobór odmiany. Ma to na celu zmniejszenie potrzeby stosowania konwencjonalnych środków ochrony roślin i zmniejszenie tym samym poziomu chemizacji rolnictwa, co przekłada się na mniejszy negatywny wpływ na agrocenozę i tym samym środowisko przyrodnicze. Ponadto wiąże się to z produkcją bezpiecznej dla konsumenta żywności, bez ryzyka akumulacji niebezpiecznych metabolitów w tkankach roślin.

## 4. METODYKA BADAŃ

### 4.1. Badania wrażliwości odmian pszenicy prowadzone w warunkach polowych

W celu określenia podatności genotypów pszenicy (203 odmiany) na porażenie przez grzyby z rodzaju *Rhizoctonia* w latach 2013–2014 i 2016–2017 przeprowadzono doświadczenie poletkowe w warunkach prowokacyjnych (fot. 1). Doświadczenie wykonano w Stacji Badawczej Wydziału Rolnictwa i Biotechnologii UTP w Mochelku, na glebie pseudobelicowej wytworzonej z piasku słabogliniastego, zaliczonej do kompleksu żytniego bardzo dobrego, klasy bonitacyjnej 4a, o pH w  $KCl=6,82$ , zawartość: próchnicy -  $10,9\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,  $P_2O_5=26,4\text{ mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ,  $K_2O=21,2\text{ mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ,  $Mg=4,0\text{ mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ . Przedplon dla pszenicy był rzepak ozimy. Przedsięwzięcie zastosowano nawożenie mineralne w postaci saletry amonowej ( $34\text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\text{ N}$ ), soli potasowej ( $80\text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\text{ K}_2\text{O}$ ) i superfosfatu ( $70\text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\text{ P}_2\text{O}_5$ ). Ponadto w fazie BBCH 31 wykonano oprysk herbicydem Mustang 306 SE w dawce  $0,6\text{ l}\cdot\text{ha}^{-1}$ . Na mikropoletka o powierzchni  $0,35\text{ m}^2$  ( $0,35\times 1,0\text{ m}$ ) wysiewano po 100 niezaprawionych ziarniaków poszczególnych odmian pszenicy i dodawano po 15 g inokulum *R. cerealis* (AG-DI) lub *R. solani* (AG-5) wyhodowanych na autoklawowanym ziarnie prosa. w czasie trwania doświadczenia nie stosowano ochrony fungicydowej. Zestawienie danych meteorologicznych (temperatura powietrza oraz opady) dla Stacji Badawczej w Mochelku zawarto w tabeli 1. Mając na uwadze warunki panujące podczas trwania doświadczeń polowych, oraz prowokacyjny charakter doświadczeń można stwierdzić, iż warunki były sprzyjające dla rozwoju patogenów z rodzaju *Rhizoctonia*.

W celu otrzymania materiału inokulacyjnego do kolb Erlenmeyera naważano po 50 g ziaren prosa po czym zalewano 30 ml wody destylowanej. Kolby zatykano korkami z waty i nakładano folię aluminiową i pozostawiano na 24 h w temperaturze pokojowej ( $21\text{--}22^\circ\text{C}$ ). Następnie ziarno autoklawowano przez 60 min w  $121^\circ\text{C}$ . Na tak przygotowany materiał naszczepiano skrawki pożywki PDA przerośnięte grzybnią testowanych izolatów *Rhizoctonia* (*R. cerealis* AG-D podgrupa i izolat Ww 542, *R. solani* AG-5 izolat Ww 11). Do badań wybrano izolaty *Rhizoctonia* odznaczające się silną wirulencją, pozyskane z podstawy źdźbeł pszenicy ozimej. Inokulum inkubowano przez 3 tygodnie w temp.  $20^\circ\text{C}$  do całkowitego przerośnięcia ziaren prosa grzybnią poszczególnych izolatów *Rhizoctonia*. Po 7 dniach inkubacji codziennie potrząsano kolbami w celu rozbicia większych skupisk. Tak przygotowane inokulum zostało wykorzystane zarówno w polowych badaniach prowokacyjnych jak również w badaniach wazonowych.

Tabela 1. Warunki pogodowe w trakcie trwania doświadczeń polowych w Stacji Badawczej WRiB w Mochełku

Rok	Miesiąc	Temperatura [°C]				Opady [mm]			
		dekada			średnia	dekada			suma
		I	II	III		I	II	III	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2013	styczeń 13	1,0	-6,1	-5,3	-3,5	20,3	6,9	16,8	44,0
	luty 13	0,0	-1,7	-1,0	-0,9	17,5	11,4	2,4	31,3
	marzec 13	0,3	-5,3	-3,8	-3,0	1,3	6,4	7,0	14,7
	kwiecień 13	0,6	10,1	10,3	7,0	0,5	11,4	1,7	13,6
	maj 13	14,0	15,4	13,3	14,2	18,0	9,1	64,6	91,7
	czerwiec 13	16,6	18,8	16,8	17,4	5,8	0,0	43,5	49,3
	lipiec 13	18,8	17,2	20,6	18,9	35	20,2	23,8	79,0
	wrzesień 13	13,1	11,4	7,6	10,7	13,6	34,1	16,4	64,1
	październik 13	6,6	8,1	9,8	8,2	0,0	12,7	5,9	18,6
	listopad 13	6,6	4,5	3,4	4,9	14,9	7,6	6,0	28,5
grudzień 13	0,1	1,5	3,7	1,8	11,0	8,1	0,0	19,1	
2014	styczeń 14	3,0	-1,9	-10,1	-3,2	15,8	6,5	1,2	23,5
	luty 14	1,0	2,1	3,2	2,0	0,0	18	0,0	18,0
	marzec 14	3,5	5,6	7,5	5,6	1,4	15,3	33,0	49,7
	kwiecień 14	7,3	8,7	13,7	9,9	17,6	18,6	4,5	40,7
	maj 14	10,4	12,8	16,3	13,3	32,1	10,6	23,0	65,7
	czerwiec 14	17,6	15,8	14,5	16,0	10,2	12,0	22,7	44,9
	lipiec 14	21,1	20,6	22,8	21,5	14,4	7,7	33,3	55,4
	sierpień 14	21,8	16,1	14,1	17,2	18,9	16,2	22,2	57,3
	wrzesień 14	15,4	16,4	11,2	14,4	9,6	0,0	16,3	25,9
	październik 14	11,3	12,4	5,3	9,6	0,0	15,3	2,7	18,0
listopad 14	7,0	5,2	0,8	4,3	11,8	7,8	4,9	24,5	
grudzień 14	-1,3	3,6	-0,6	0,5	1,5	15,6	52,2	69,3	
2015	styczeń 15	0,9	2,9	-0,4	1,1	21,1	3,4	8,7	33,2
	luty 15	-1,5	0,0	2,4	0,1	8,9	0,0	0,0	8,9
	marzec 15	3,8	4,2	4,3	4,1	6,7	0,7	28,3	35,7
	kwiecień 15	4,3	7,8	10,6	7,5	5,5	1,1	9,0	15,6
	maj 15	12,0	11,9	13,2	12,4	8,7	12,4	0,5	21,6
	czerwiec 15	16,5	15,3	15,1	15,6	2,3	17,0	13,7	33,0
	lipiec 15	20,5	17,8	17,3	18,5	11,3	11,8	27,3	50,4
	sierpień 15	22,6	21,3	19,0	20,9	12,7	3,1	4,5	20,3
	wrzesień 15	14,5	15,2	11,6	13,8	47,0	5,4	0,0	52,4
	październik 15	7,9	5,5	5,8	6,4	0,0	20,9	0,0	20,9
listopad 15	5,8	7,9	0,8	4,8	9,4	22,4	5,2	37,0	
grudzień 15	4,3	3,2	3,5	3,7	1,2	17,0	6,2	24,4	

Tabela 1. cd.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2016	styczeń 16	-8,5	-2,8	0,8	-3,3	4,1	7,4	8,8	20,3
	luty 16	4,2	1,4	1,8	2,5	2,6	4,9	11,5	19,0
	marzec 16	2,6	2,2	4,8	3,3	10,5	7,9	4,8	23,2
	kwiecień 16	9,6	9,2	6,0	8,3	6,5	15,3	6,9	28,7
	maj 16	13,4	11,8	18,5	14,7	15,8	13,2	22,4	51,4
	czerwiec 16	17,1	16,2	19,8	17,7	3,1	71,3	23,7	98,1
	lipiec 16	17,3	17,6	19,8	18,3	29,4	63,9	40,5	133,8
	sierpień 16	16,6	14,9	17,6	16,4	38,3	3,7	13,3	55,3
	wrzesień 16	16,5	15,0	11,3	14,3	19,4	0,0	0,0	19,4
	październik 16	8,1	4,8	6,1	6,3	67,3	38,5	10,0	116,3
	listopad 16	2,1	2,7	2,7	2,5	18,2	19,5	4,0	41,0
	grudzień 16	2,4	0,3	1,5	1,4	18,6	13,0	11,1	42,7
2017	styczeń 17	-3,8	-2,3	-1,6	-2,6	9,8	4,7	0,0	14,5
	luty 17	-3,7	-1,1	4,4	-0,5	0,0	4,8	25,5	30,3
	marzec 17	4,0	4,0	7,9	5,4	6,5	19,7	1,3	27,5
	kwiecień 17	9,9	4,7	5,8	6,8	6,3	23,8	10,7	40,8
	maj 17	8,5	15,2	16,3	13,4	38,7	5,3	12,3	56,3
	czerwiec 17	15,6	17,4	17,4	16,8	17,4	12,3	24,6	54,3
	lipiec 17	16,5	17,3	19,0	17,7	14,2	48,5	56,2	118,9
	sierpień 17	16,5	15,0	11,3	14,3	19,4	0,0	0,0	19,4
	wrzesień 17	14,4	12,3	12,4	13,0	64,2	9,3	4,9	78,4
	październik 17	10,3	12,7	7,4	10,1	58,1	11,0	37,7	106,8
	listopad 17	6,4	3,4	3,6	4,5	5,0	8,4	17,1	30,5
	grudzień 17	2,0	0,3	3,5	2,0	12,3	4,5	22,0	38,8

Dane meteorologiczne zostały opracowane przez pracowników Pracowni Melioracji i Agrometeorologii Katedry Przyrodniczych Podstaw Rolnictwa i Ogrodnictwa WRiB



Fot. 1. Doświadczenie odmianowe prowadzone w Stacji Badawczej WRiB w Mochelku (autor: K. Lisiecki)

#### **4.2. Badanie wrażliwości odmian pszenicy prowadzone w teście bibułowym**

W teście bibułowym przebadano wrażliwość 162 odmian pszenicy na porażenie przez grzyby z rodzaju *Rhizoctonia*. w tym celu na płytkach Petriego Anumbra (200×30 mm), wyłożonych trzema zwilżonymi (16 ml sterylnej wody) sączkami bibuły, nakładano krążki agaru przerośnięte grzybnią *R. solani* lub *R. cerealis*. Na wyłożone krążki nakładano następnie podkiełkowane (3 dniowe) ziarniaki pszenicy. Po upływie 10 dni dla *R. solani* i 15 dni dla *R. cerealis* rośliny oceniano pod względem występowania objawów chorobowych. Oceny dokonywano na podstawie 5-stopniowej skali bonitacyjnej (0 - brak objawów, 4 - silne porażenie). Uzyskane wyniki poddawano przeliczeniu na indeks chorobowy według przekształcenia Townsenda-Heubergera (1943).

#### **4.3. Badania aktywności wybranych markerów odporności**

W celu zbadania reakcji genotypów pszenicy założono ścisły eksperyment wazonowy. w doświadczeniach wykorzystano 5 genotypów pszenicy: *Triticum aestivum* ssp. *aestivum* cv. Toras, *Triticum turgidum* ssp. *durum* (Desf.) Husn. cv. Karmadur, *Triticum aestivum* ssp. *spelta* L. cv. Rokosz, *Triticum*

*sphaerococcum* (Percival), *Triticum persicum* Vavilov, które stanowiły pierwszy czynnik doświadczalny. w celu ułatwienia zapisu w niniejszej pracy przyjęto skrócone nazwy gatunków: *T. aestivum*, *T. durum*, *T. spelta*, *T. sphaerococcum*, *T. persicum*. Wymienione genotypy roślin pochodziły z kolekcji genotypów roślin Katedry Agronomii Wydziału Rolnictwa i Biotechnologii UTP. Jako drugi czynnik zastosowano różne genotypy grzybów z rodzaju *Rhizoctonia* (*R. cerealis* AG-DI izolat Ww 542, *R. solani* AG-5 izolat Ww 11, *R. solani* AG-11C, *Rhizoctonia* sp. AG-B0). Wszystkie wykorzystane w badaniach izolaty grzybów pochodziły z kolekcji patogenów Pracowni Mykologii Molekularnej, Fitopatologii i Entomologii, WRiB UTP.

Testowane rośliny uprawiano na podłożu glebowego składającym się z substratu torfowego Gramoflor Profisubstrat o kompozycji NPK: 100-300 mg N · L<sup>-1</sup>, 100-300 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> · L<sup>-1</sup>, 100-300 mg K<sub>2</sub>O · L<sup>-1</sup>, pH=6,5. Substrat wymieszano z piaskiem kwarcowym w proporcji 4: 1 (objętościowo). Do każdej doniczki wysiewano po 20 ziaren pszenicy w 4 powtórzeniach. Wysiane ziarniaki przykrywano warstwą piasku kwarcowego, na który wykładano inokulum, po 2 g ziarna prosa przerośniętego grzybnią *Rhizoctonia*. Następnie warstwę z inokulum przykrywano podstawowym substratem glebowym. Doświadczenie prowadzono w komorze wzrostowej (fitotronie) w następujących warunkach: fotoperiod 16:8 (dzień/noc), promieniowanie PAR 125 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, temperatura 20°C w dzień i w nocy, wilgotność powietrza minimum 80%.

Rośliny od momentu wschodów codziennie liczono i oceniano pod kątem występowania ewentualnych objawów chorobowych. Po upływie 15 dni rośliny delikatnie wyjmowano z podłoża, obmywano, ważono i poddawano ocenie na podstawie 5-stopniowej skali bonitacyjnej. Uzyskane wyniki poddawano przeliczeniu na indeks chorobowy według przekształcenia Townsenda-Heubergera (1943). Następnie zabezpieczano do dalszych analiz poprzez zamrożenie w -80°C.

#### **4.3.1. Oznaczenia aktywności wybranych markerów**

Materiał pochodzący z doświadczeń fitotronowych wykorzystano do oznaczenia występowania i aktywności wybranych markerów odporności. Badanymi markerami były m.in. enzymy klasy hydrolaz biorących udział w bezpośrednim zwalczaniu patogenów (chitynaz i glukazy), enzymy z klasy oksydoreduktaz biorących udział w wybuchu oksydacyjnym oraz utrzymywaniu homeostazy redoks – dysmutaza ponadtlenkowa. Pobrany materiał posłużył również do oznaczenia stanu energetycznego tkanek roślin poprzez pomiar zawartości wolnych cukrów. Ekstrakcję białek PR prowadzono w 50 mM buforze Sorensena o pH 7,0 z dodatkiem 1 M NaCl, 1% PPVP, 1 mM EDTA i 1 mM akorbinianu sodu. 250 mg świeżej tkanki roślin rozcierano

w schłodzonym mózdzierzu z dodatkiem 2 ml lodowatego buforu i trawionego, sterylne go piasku kwarcowego. Homogenat odwirowano przy 15000 x g przez 25 min. w temperaturze 4°C. Supernatant zdekantowano znad osadu. Osad ponownie roztrawiano w 0,5 ml buforu ekstrakcyjnego, ponownie wirowano przy 15000 x g przez 15 min. Otrzymany supernatant zlewano i łączono z poprzednio uzyskanym. Otrzymany ekstrakt traktowano jako źródło białek cytozolowych, apoplastycznych i jonowo związanych z ścianą komórkową.

Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej SOD (EC 1.15.1.1) określono według metody Beauchampa i Fiodorovicha (1971), w której miarą aktywności enzymatycznej jest zdolność do hamowania fotochemicznej redukcji błękitu tetrazoliowego. W skład mieszaniny reakcyjnej (generującej  $O_2^-$ ) wchodziło: 50 mM fosforanowego buforu reakcyjnego (pH 7,8), 13 mM metioniny, 75  $\mu$ M NBT, 2  $\mu$ M ryboflawiny, 0,01 mM EDTA i od 0,02 do 0,03 ml frakcji enzymatycznej. Reakcję rozpoczynano po dodaniu ryboflawiny do mieszaniny reakcyjnej i umieszczeniu jej w odległości 20 cm od źródła promieniowania UV o mocy 15 W. Kontrolę stanowiły próbki nie zawierające frakcji enzymatycznej. Reakcję prowadzono przez 10 min., po czym odczytywano wartość absorbancji przy fali długości 560 nm. Jako jednostkę aktywności przyjęto reakcję hamowania redukcji NBT w odniesieniu do próbki kontrolnej o 50% zgodnie z definicją, zaproponowaną przez McCord i Fridorovich (1969). Aktywność enzymów określano w przeliczeniu na 1 g świeżej masy i 1 mg białka.

Aktywność chitynaz (CHI) i  $\beta$ -1,3-glukanaz (GLU) oznaczano zmodyfikowaną metodą Abeles (1970 a i b) na podstawie reakcji Millera (1959). 200  $\mu$ l mieszaniny reakcyjnej stanowiło 100  $\mu$ l frakcji enzymatycznej oraz 100  $\mu$ l roztworu chityny koloidalnej (2 mg·ml<sup>-1</sup> dla chitynaz), lub laminaryny (1 mg·ml<sup>-1</sup> dla glukanaz) zawieszony w buforze octanowym o pH 4,5. Reakcję przeprowadzano w temperaturze 37°C przez 60 min. Po inkubacji próbki wirowano przez 5 min. przy 5500 x g. Następnie do 100  $\mu$ l supernatantu dodawano 100  $\mu$ l odczynnika DNS i ogrzewano w 95°C przez 5 min., następnie schładzano do temperatury 25°C i dokonywano pomiaru przy fali długości 550 nm. Wartość uwolnionych ekwiwalentów glukozy odczytywano z krzywej wzorcowej w zakresie 20–100  $\mu$ g. Aktywność enzymów określano w jednostkach u (1 u = 1 nM) w przeliczeniu na 1 h, i 1 g świeżej masy lub na 1 mg białka.

Stężenie białka oznaczono za pomocą metody Bradford (1976). Jako standardu do krzywej wzorcowej użyto albuminy wołowej w stężeniu w zakresie 0–50  $\mu$ g.

Zawartość wolnych cukrów określano według metody DuBois (1956) zmodyfikowanej przez Bacete i in. (2017). Ekstrakty (100  $\mu$ l) mieszano z 100  $\mu$ l 5% roztworu fenolu i wortexowano, następnie dodawano 500  $\mu$ l 96%



kwasu siarkowego i ponownie worteksowano. Po ostudzeniu mieszaninę reakcyjną w objętości 250  $\mu$ l nakładano na płytki mikrolitrowe i odczytywano przy fali o długości 490 nm. Zawartość wolnych ekwiwalentów glukozy określano na podstawie krzywej kalibracyjnej dla glukozy w zakresie 0–40  $\mu$ g. Zawartość wolnych cukrów przeliczano na g świeżej masy.

#### 4.3.2. Określenie stopnia relatywnej intensywności interakcji (RII)

Do oszacowania relatywnej intensywności interakcji pomiędzy mikroorganizmem a rośliną zastosowano wzór zaproponowany przez Armas i in. (2004):

$$RII = \frac{Bw - Bwo}{Bw + Bwo}$$

gdzie:

RII - relatywna intensywność interakcji

Bw - biomasa roślin wystawionych na działanie mikroorganizmów

Bwo - biomasa roślin nie wystawionych na działanie mikroorganizmów

Na podstawie zmierzonej świeżej biomasy roślin możliwe było określenie stopnia wpływu mikroorganizmu i określenie charakteru relacji roślina - patogen i zaklasyfikowanie jej jako: pasożytnictwa - wartość RII <-1, komensalizmu - wartość RII +/- 0, symbiozy - Wartość RII >+1.

#### 4.4. Analizy statystyczne

Otrzymane dane pozyskane z przeprowadzonych doświadczeń poddano analizie statystycznej wykonanej w MS Excel, programie Statistica 13.3 oraz R Core Team (wersja 4.0.3) z nakładką R Studio. Normalizację rozkładu danych empirycznych przeprowadzono za pomocą transformacji Boxa-Coxa. Dla wyników opisujących stopień porażenia roślin, biomasę oraz stopnia relatywnej intensywności interakcji, zarówno dla pojedynczej rośliny jak i w ujęciu całościowym, aktywności chitynaz,  $\beta$ -1,3-glukanaz, SOD, zawartości wolnych cukrów przeprowadzono dwuczynnikową/dwukierunkową analizę wariancji przy użyciu testu post-hoc HSD Tukeya dla poziomu istotności  $p=0,05$ , w celu wyznaczenia obiektów istotnie różnych, jak również istotności interakcji między czynnikami. Do obliczeń zależności pomiędzy wartościami indeksów chorobowych dla poszczególnych odmian pszenicy a testowanym patogenem oraz zależności stopnia porażenia pomiędzy poszczególnymi częściami roślin wykorzystano współczynnik korelacji liniowej  $r$ -Pearsona. Wielowymiarowa technika eksploracyjna składowych głównych PCA (ang. principle component analysis) została wykorzystana do wyjaśnienia wielo cechowego zróżnicowania

gatunków pszenicy ozimej w odniesieniu do każdego z badanych patogenów oraz klasyfikacji odmian pszenicy w ujęciu dwóch pierwszych składowych. w celu określenia adekwatności doboru zmiennych wejściowych do analizy czynnikowej wykonano test KMO (Kaisera-Meyera-Olkina). Wykonano analizę hierarchiczną metodą K-średnich w odniesieniu do przetestowanych genotypów pszenicy na patogeny *R. solani* AG-5 i *R. cerealis* AG-DI w doświadczeniach polowych jak i laboratoryjnych - bibułowach. Ilość wymaganych grup (klastrów) obliczono z zastosowaniem algorytmu „Gap statistic”, „Wss” i „Silhouette”, bootstrap 1000. Znając optymalną liczbę grup wykonano grupowanie gatunków pszenicy o podobnym charakterze w układzie dwuwymiarowym według Kassambara (2017 a i b).

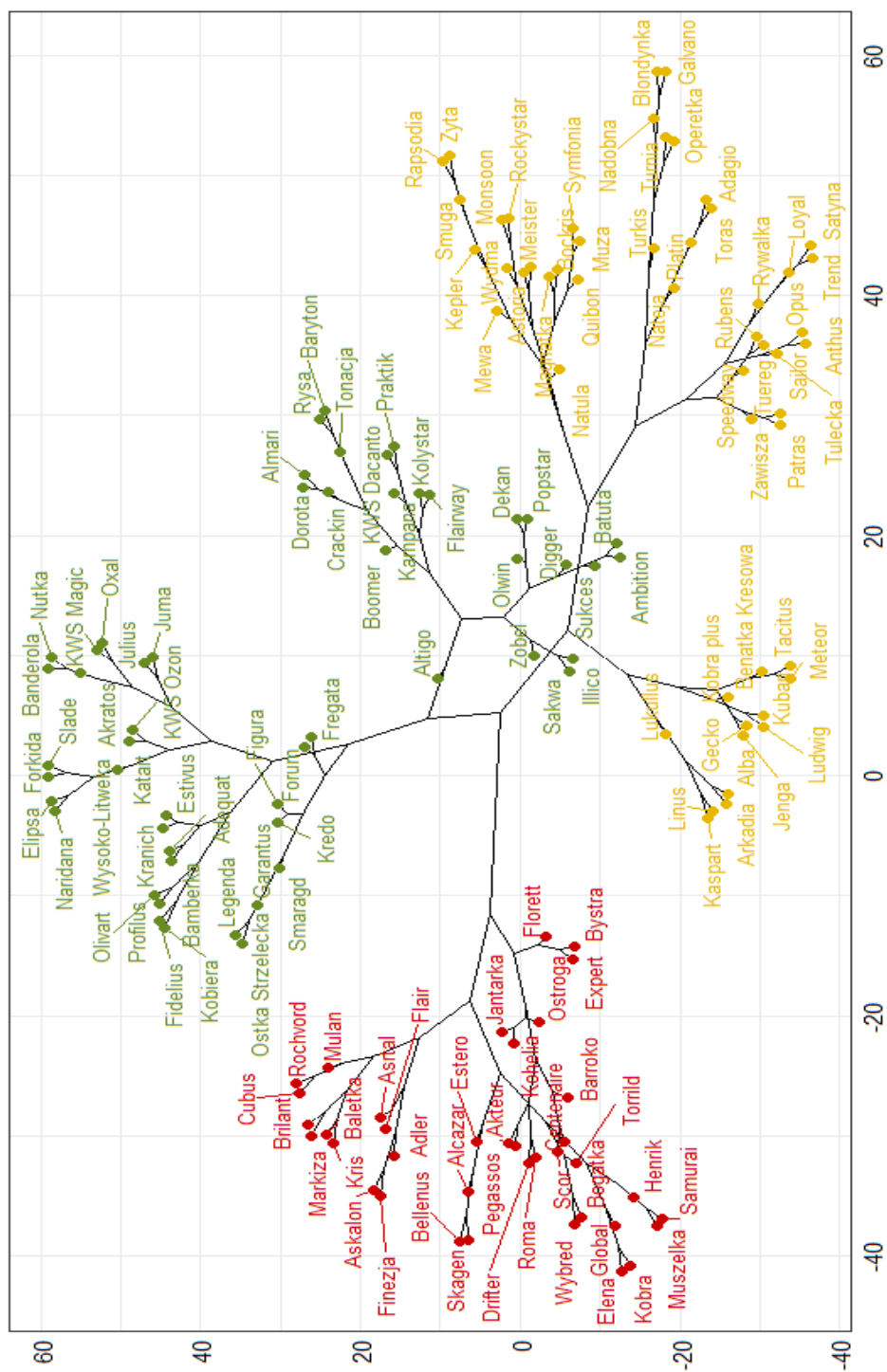
## 5. WYNIKI

### 5.1. Wrażliwość genotypów pszenicy na *Rhizoctonia* określana w warunkach polowych

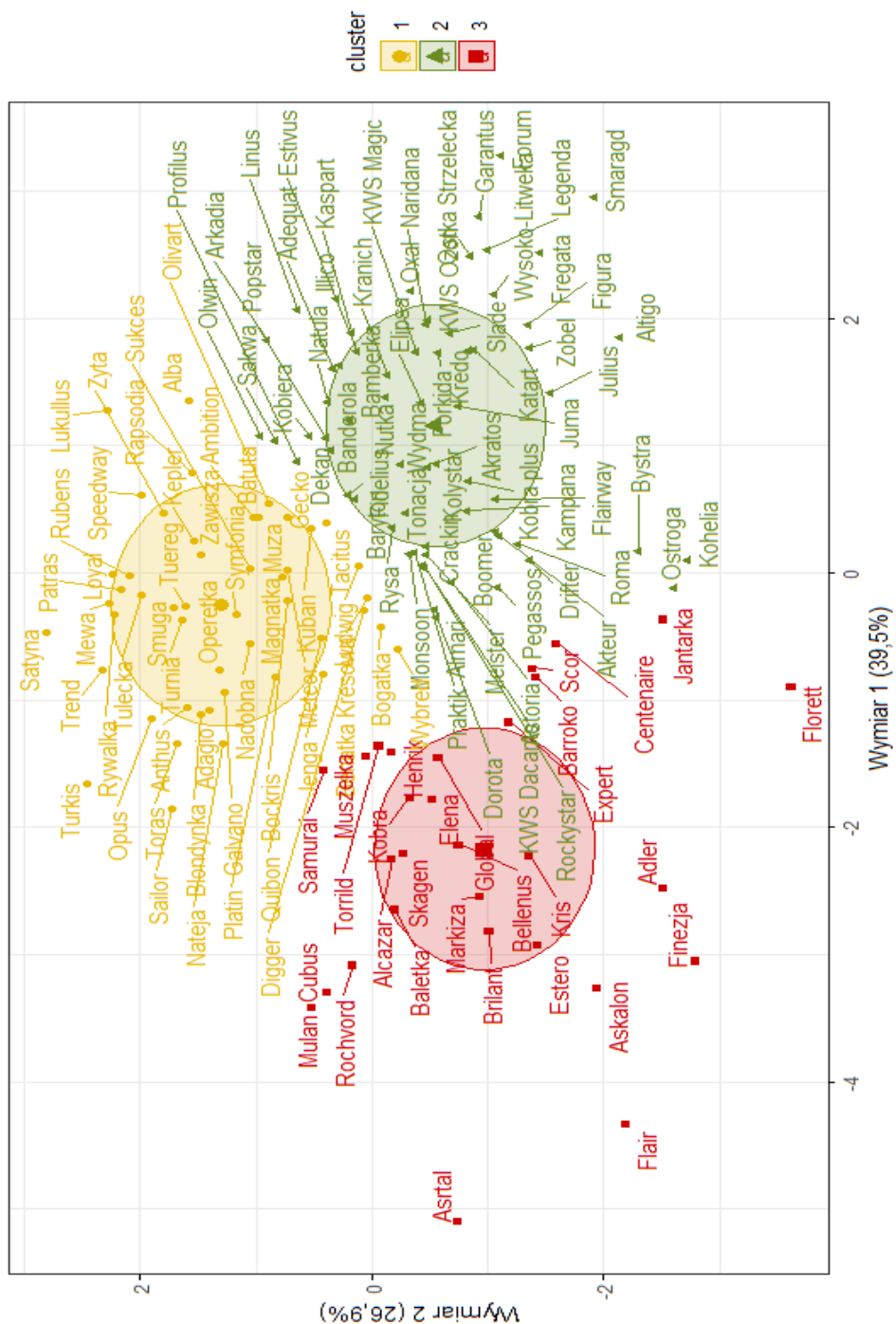
W doświadczeniu polowym przeprowadzonym w warunkach prowokacyjnych (obserwowano podobieństwa pod względem liczności przedziałów indeksu chorobowego Tabela 2). 17,3% roślin nie wykazywało jakichkolwiek zmian chorobowych (DI = 0,0%) w kombinacjach z inokulacją *R. cerealis* AG-DI, z kolei dla wariantu z inokulacją *R. solani* AG-5 na 18,6% roślin nie stwierdzono objawów chorobowych. Podobnie rozkładała się liczność w przedziałach 0–5% wynosząca 32,7% dla *R. cerealis* AG-DI i 30,2% dla *R. solani* AG-5. W przedziale liczności indeksu chorobowego w przedziale 10–15% zdecydowanie więcej roślin porażanych było przez *R. cerealis* AG-DI (17,3%), a w tym samym przedziale 6,9% genotypów porażonych zostało przez *R. solani* AG-5. Kolejne dwie klasy liczności reprezentowane były przez rośliny inokulowane *R. solani* AG-5, gdzie 9,3% z nich wykazywało porażenie w zakresie 15–20%, 2,3% w zakresie 20–25%, oraz 4,7% w zakresie 25–30%. Maksymalne odnotowane wartości indeksu chorobowego wyniosły 15% dla *R. cerealis* AG-DI i 29,2% dla *R. solani* AG-5.

Tabela 2. Liczność dla indeksów chorobowych [%] obserwowana dla objawów chorobowych powodowanych przez *Rhizoctonia* w polowym doświadczeniu prowadzonym w warunkach prowokacyjnych w latach 2013–2014 oraz 2016–2017

Klasa	<i>R. cerealis</i> AG-DI	<i>R. solani</i> AG-5
$x \leq 0,0$	17,3	18,6
$0,0 < x \leq 5,0$	32,7	30,2
$5,0 < x \leq 10,0$	32,7	27,9
$10,0 < x \leq 15,0$	17,3	6,9
$15,0 < x \leq 20,0$	0,0	9,3
$20,0 < x \leq 25,0$	0,0	2,3
$25,0 < x \leq 30,0$	0,0	4,7



Rys. 1. Grupowanie hierarchiczne genotypów pszenicy w testach polowych metodą K-średnich w formie drzewa filogenetycznego



Rys. 2. Grupowanie hierarchiczne genotypów pszenicy w testach polowych metodą K-średnich w układzie dwuwymiarowym

Wyniki doświadczeń polowych poddano analizie wielowymiarowej w postaci grupowania hierarchicznego metodą K-średnich (rys. 1, rys. 2). Testowane genotypy przyporządkowano do trzech grup różniących się pod względem podatności na *R. cerealis* AG-DI oraz *R. solani* AG-5. Grupa 1 zawiera 49 badanych genotypów, z kolei grupa 2 zawiera 65 genotypów oraz grupa 3, w której znajdują się 29 z badanych genotypów pszenicy. w wyniku przeprowadzonej analizy określono dwa wymiary kolejno odpowiadające za 39,5% wariancji (Wymiar 1) oraz 26,9% wariancji (Wymiar 2).

Grupę 1 stanowiły rośliny o umiarkowanej podatności na patogeny z rodzaju *Rhizoctonia*. Dodatkowo grupa ta zlokalizowana jest dodatkowo względem wymiaru 2 oraz w dużej mierze ujemnie względem wymiaru 1. w skład wymienionej grupy wchodziły takie genotypy jak: Adagio, Alba, Ambition, Anthus, Batuta, Benatka Kresowa, Blondynka, Bockris, Bogatka, Digger, Galvano, Gecko, Jenga, Kepler, Kuban, Loyal, Ludwig, Lukullus, Magnatka, Meteor, Mewa, Muza, Nadobna, Nateja, Olivart, Operetka, Opus, Patras, Platin, Quibon, Rapsodia, Rubens, Rywalka, Sailor, Satyna, Smuga, Speedway, Sukces, Symfonia, Tacitus, Toras, Trend, Tuereg, Tulecka, Turkis, Turnia, Wybred, Zawisza, Zyta.

Grupę roślin o najmniejszej podatności na badane patogeny zawiera klaster nr 2 zlokalizowany dodatkowo na wymiarze 1, oraz w dużej mierze ujemnie na wymiarze 2. Należą tutaj takie genotypy jak: Adequat, Akratos, Akteur, Almari, Altigo, Arkadia, Astoria, Bamberka, Banderola, Baryton, Boomer, Bystra, Crackin, Dekan, Dorota, Drifter, Elipsa, Estivus, Fidelius, Figura, Flairway, Forkida, Forum, Fregata, Garantus, Illico, Julius, Juma, Kampana, Kaspart, Katart, Kobiera, Kobra plus, Kohelia, Kolystar, Kranich, Kredo, KWS Dacanto, KWS Magic, KWS Ozon, Legenda, Linus, Meister, Monsoon, Naridana, Natula, Nutka, Olwin, Ostka Strzelecka, Ostroga, Oxal, Pegassos, Popstar, Praktik, Profilus, Rockystar, Roma, Rysa, Sakwa, Slade, Szmargd, Tonacja, Wydma, Wysoko-Litewka, Zobel.

Najmniej liczną grupę (nr 3) stanowiły rośliny podatne na patogeny. Grupa zlokalizowana jest ujemnie względem obu wymiarów. Należą tutaj takie genotypy jak: Adler, Alcazar, Askalon, Asrtal, Baletka, Barroko, Bellenus, Brilant, Centenaire, Cubus, Elena, Estero, Expert, Finezja, Flair, Florett, Global, Henrik, Jantarka, Kobra, Kris, Markiza, Mulan, Muszelka, Rochvord, Samurai, Scor, Skagen, Torrild.

## 5.2. Wrażliwość odmian pszenicy na *Rhizoctonia* określana w teście bibułowym

Przeprowadzono testy bibułowe (tabela 3), w których podkiełkowane ziarniaki pszenicy wystawione zostały na działanie *R. cerealis* AG-DI i *R. solani* AG-5. Następnie oceniano występowanie objawów chorobowych na korzeniach, podstawie pędu oraz liściach. Rośliny reagowały w zróżnicowanym stopniu na zastosowane patogeny.

Tabela 3. Nasilenie objawów chorobowych (DI w %) powodowanych przez *R. cerealis* AG-DI i *R. solani* AG-5 - test bibułowy

Klasa	<i>R. cerealis</i> AG-DI [%]			<i>R. solani</i> AG-5 [%]		
	korzenie	podstawa pędu	liście	korzenie	podstawa pędu	liście
$x \leq 0,0$	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	8,1
$0,0 < x \leq 10,0$	1,6	0,0	0,0	39,8	0,0	48,0
$10,0 < x \leq 20,0$	7,2	0,0	3,2	46,3	0,0	24,4
$20,0 < x \leq 30,0$	37,6	0,0	6,4	13,8	0,0	11,4
$30,0 < x \leq 40,0$	34,4	0,8	11,2	0,0	1,6	4,1
$40,0 < x \leq 50,0$	16,0	0,8	29,6	0,0	14,6	3,2
$50,0 < x \leq 60,0$	2,4	3,2	23,2	0,0	39,0	0,0
$60,0 < x \leq 70,0$	0,8	12,8	20,0	0,0	34,1	0,0
$70,0 < x \leq 80,0$	0,0	51,2	6,4	0,0	8,1	0,8
$80,0 < x \leq 90,0$	0,0	30,4	0,0	0,0	2,4	0,0
$90,0 < x \leq 100,0$	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0

Oceniając porażenie roślin przez *R. cerealis* AG-DI nie stwierdzono odmian ze zdrowymi korzeniami. Zaledwie 1,6% badanych próbek charakteryzowało się minimalnym indeksem chorobowym korzeni - w przedziale 0–10% (tabela 3). Zdecydowanie najwięcej próbek zaklasyfikowano do przedziału 20–30% oraz 30–40%. Nie stwierdzono większej wartości DI niż 61%. Patogen powodował poważne uszkodzenia podstawy pędu roślin. Minimalna wartość DI jaką zarejestrowano wynosiła około 32% (0,8% badanych genotypów). Najwięcej genotypów zaklasyfikowano do przedziału 70–80% (51,2% odmian) oraz 60–70% (12,8% odmian). W przypadku porażania liści przez *R. cerealis* AG-DI, najwięcej odmian zaliczono do przedziałów kolejno 30–40% (11,2% odmian), 40–50% (29,6% odmian), 50–60% (23,2% odmian) oraz 60–70% (20% odmian). Zdecydowaną większość objawów chorobowych obserwowano na podstawie

pędu. Można przypuszczać, iż porażenie liści było efektem silnego porażenia dolnego odcinka pędu, co umożliwiło dalszą proliferację patogena na kolejne tkanki roślin.

W przypadku porażenia korzeni roślin przez *R. cerealis* AG-DI zaobserwowano, iż odmiany Almari oraz Elena charakteryzowały się najmniejszymi wartościami indeksu chorobowego, które wynosiły 8,33% dla Almari oraz 9,17% dla Elena (tabela 4). Obie odmiany stanowiły zbliżoną grupę jednorodną oraz, co ważne, indeks chorobowy dla wymienionych obu odmian był istotnie mniejszy od większości przebadanych genotypów. Warto również zaznaczyć, iż w przypadku odmian Almari i Elena procent roślin z zainfekowanymi innymi organami był bardzo zbliżony. Zaledwie 33,33% roślin odmiany Almari wykazywało zmiany chorobowe zarówno na korzeniach jak i podstawie pędu. Podobnie było w przypadku odmiany Elena, gdzie korzenie i podstawa pędu była porażona u 36,67% roślin. 48,33% roślin odmiany Juma charakteryzowało się porażeniem korzeni i podstawy pędu oraz 51,67% roślin odmiany Muza. z kolei najbardziej podatnymi genotypami okazały się rośliny odmiany Estero (DI=52,5%), Anthus (DI=53,75%) oraz Turkis (DI=60,83%). Na wszystkich roślinach tych odmian obserwowano objawy porażenia. Co więcej, rozpatrując procentowy udział roślin porażonych wśród badanych genotypów zaobserwowano, iż dla 33 odmian 100% roślin było porażonych. Należą tu genotypy takie jak: Altigo, Anthus, Asrtal, Baryton, Benatka Kresowa, Bockris, Centenaire, Dekan, Dorota, Estero, Expert, Fregata, Julius, Kobiera, Kobra Plus, Kohelia, Kranich, Legenda, Ludwig, Monsoon, Nutka, Olivart, Olwin, Rapsodia, Roma, Sakwa, Samurai, Satyna, Smaragd, Turkis, Turnia, Wydma, Zawisza.

W przypadku nasilenia objawów chorobowych obserwowanych na podstawie pędu, odnotowano mniejsze zróżnicowanie jak w przypadku korzeni. Najmniej podatne okazały się rośliny takich genotypów jak Adler (31,17%) oraz Ostroga (48,33%). Jako najbardziej podatne okazały się rośliny odmian Bogatka (88,33%), Kolystar (88,35%), Rysa (89,17%) oraz Digger (90,83%) (tabela 4).

W przypadku roślin charakteryzujących się niskim indeksem chorobowym dla korzeni (odmiany Almari oraz Elena) nie zaobserwowano podobnych tendencji w przypadku porażenia podstawy pędu. Oba wymienione odmiany charakteryzowały się wysokimi wartościami porażenia na dolnym odcinku pędu. W przypadku Almari indeks chorobowy dla podstawy pędu wynosił 68,33%, z kolei dla odmiany Elena było to aż 79,58%. Jak podano wcześniej obie odmiany cechowały się małym udziałem roślin z objawami porażenia, tj. 33,33% dla Almari i 36,67% dla Eleny. Rozpatrując genotypy pszenicy pod kątem liczności porażanej obsady wykazano iż, podobnie jak w przypadku porażenia korzeni, tak w przypadku dolnego odcinka pędu najsilniej porażone



były odmiany Altigo, Anthus, Asrtal, Baryton, Benatka Kresowa, Bockris, Centenaire, Dekan, Dorota, Estero, Expert, Fregata, Julius, Kobiera, Kobra Plus, Kohelia, Kranich, Legenda, Ludwig, Monsoon, Nutka, Olivart, Olwin, Rapsodia, Roma, Sakwa, Samurai, Satyna, Smaragd, Turkis, Turnia, Wydma oraz Zawisza (100% roślin).

Badając zdrowotność liści zaobserwowano, iż najbardziej odporne na działanie patogena, tj. wykazujące najmniejszy indeks chorobowy, okazały się odmiany Adler (11,17%), Astral (13,67%), Crackin (17,41%) oraz Forkida (17,82%) (tabela 4). Rozpatrując procent porażonych roślin dla wymienionych genotypów zaobserwowano, iż odmiana Adler wykazywała najniższą liczebność porażonych roślin na poziomie 25% obsady, następnie Crackin - 30% obsady, oraz Forkida - 33% obsady. Co istotne odmiana Astral charakteryzowała się blisko 52% roślin z objawami porażenia. Natomiast w przypadku takich odmian jak Loyal, Gecko, Galvano, Alba, Roma, Kobra, Kaspert objawy porażenia przez *R. cerealis* AG-DI stwierdzono na 100% liści badanych roślin.

Ekspozycja roślin na działanie *R. solani* AG-5, powodowała, iż korzenie roślin były porażane w mniejszym stopniu niż w przypadku *R. cerealis* AG-DI (tabela 5). Nie stwierdzono, aby jakakolwiek z badanych odmian charakteryzowała się brakiem objawów na korzeniach. Blisko 40% badanych roślin wykazywała porażenie w przedziale 0–10%, następnie ponad 46% odmian wykazywała porażenie w zakresie 10–20%, oraz ok. 14% w zakresie 20–30%. W przypadku występowania objawów na podstawie pędu, obserwowano pewne podobieństwa jak w przypadku *R. cerealis* AG-DI. Najwięcej objawów chorobowych obserwowano w zakresach 50–60% (ok. 40% badanych odmian) oraz 60–70% (34% badanych odmian). Co istotne stwierdzono mniejsze nasilenie objawów chorobowych w zakresach 70–80% i 80–90% w porównaniu z inokulacją *R. cerealis* AG-DI. W przypadku występowania objawów porażenia na liściach stwierdzono, iż 8% badanych odmian nie wykazywała jakichkolwiek objawów porażenia. Zdecydowana większość odmian (ok. 48%) charakteryzowała się porażeniem w zakresie 0–10%. Znacznie mniej odmian (ok. 25%) charakteryzowało się indeksem chorobowym na poziomie 10–20% oraz 20–30% w przypadku 12,4% odmian. Oba patogeny powodowały silne zniszczenie tkanek podstawy pędu roślin. Uszkodzenie tego odcinka przyczyniało się do dalszych martwic, zarówno na liściach jak i korzeniach. Co ciekawe nekroza tkanek liści była mniej nasiloną w przypadku inokulacji roślin *R. solani* AG-5, który charakteryzuje się większymi tendencjami do maceracji tkanek roślin, jako patogen nekrotroficzny.

W przypadku porażenia korzeni roślin przez *R. solani* AG-5, trzy odmiany znacząco odróżniały się od pozostałych badanych odmian. Najmniej podatne

były korzenie odmian Dorota (DI=0,42%), Toras (DI=0,83%) oraz Boomer (DI=1,25%) (tabela 5). Podobny rozkład miało porażenie obsady roślin wymienionych genotypów. Z kolei najmocniej porażone były rośliny odmian Zawisza (DI=25%), Astral (DI=26,67%) oraz Monsoon (DI=26,67%).

Porażenie podstawy pędu było najmniej intensywne dla odmian Flairway (DI=37,13%) oraz Altigo (DI=39,17%). Podobnie jak w przypadku inokulacji *R. cerealis* AG-DI nie zaobserwowano, aby niskie porażenie korzeni korespondowało z mniejszym porażeniem podstawy pędu. Z kolei najbardziej podatne okazały się odmiany Blondynka (DI=80,42%), Wysokolitewka (DI=81,97%) oraz Tonacja (DI=85,63%). Rozpatrując procentowy udział porażonych roślin najmniej objawów chorobowych było obserwowanych dla odmiany Mewa (75%). W przypadku 55 odmian objawy porażenia na podstawie pędu obserwowano na wszystkich roślinach.

W przypadku zamian chorobowych obserwowanych na liściach, stwierdzono, iż były one mniej intensywne niż w przypadku ekspozycji na *R. cerealis* AG-DI (tabela 5). Zaobserwowano kilka odmian, których liście nie wykazywały jakichkolwiek zmian chorobowych. Do odmian tych należą: Batuta, Markiza, Forkida, Mewa, Szmaragd, Global, Jantarka, Ostroga, Kohelia, Smuga oraz Kris. Z kolei najsilniej porażone były liście odmiany Tonacja (DI=73,75%). Rozpatrując udział roślin z chorymi liśćmi w obsadzie zaobserwowano, iż w przypadku odmian Tonacja i Torild objawy te widoczne były na ponad 90% roślin.

Tabela 4. Nasilenie objawów chorobowych na siewkach odmian pszenicy spowodowanych przez *R. cerealis* AG-DI w teście bibułowym

Odmiana	Indeks chorobowy (%)			% roślin z objawami porażenia		
	korzenie	podstawa pędu	liście	korzenie	podstawa pędu	liście
1	2	3	4	5	6	7
Adagio	31,67 <sup>e-y</sup>	75,08 <sup>c-l</sup>	45,09 <sup>a-u</sup>	98,33 <sup>gh</sup>	98,33 <sup>h-i</sup>	65,00 <sup>b-m</sup>
Adequat	19,58 <sup>a-1</sup>	77,08 <sup>c-l</sup>	70,00 <sup>f-v</sup>	71,67 <sup>c-h</sup>	71,67 <sup>c-i</sup>	95,00 <sup>j-m</sup>
Adler	28,33 <sup>c-t</sup>	31,67 <sup>a</sup>	11,17 <sup>ab</sup>	96,67 <sup>f-h</sup>	96,67 <sup>g-i</sup>	25,00 <sup>a</sup>
Akratos	30,42 <sup>d-x</sup>	76,25 <sup>c-l</sup>	44,92 <sup>a-u</sup>	93,33 <sup>f-h</sup>	93,33 <sup>f-i</sup>	68,33 <sup>c-m</sup>
Akteur	23,33 <sup>a-m</sup>	72,92 <sup>c-l</sup>	43,03 <sup>a-t</sup>	78,33 <sup>c-h</sup>	78,33 <sup>c-i</sup>	78,33 <sup>d-m</sup>
Alba	27,50 <sup>c-s</sup>	86,67 <sup>i-l</sup>	77,83 <sup>uv</sup>	96,67 <sup>f-h</sup>	96,67 <sup>g-i</sup>	100,00 <sup>l</sup>
Alcazar	29,58 <sup>c-v</sup>	71,67 <sup>c-l</sup>	43,08 <sup>a-t</sup>	95,00 <sup>f-h</sup>	95,00 <sup>f-i</sup>	75,00 <sup>d-m</sup>
Almari	8,33 <sup>a</sup>	68,33 <sup>b-l</sup>	55,33 <sup>b-v</sup>	33,33 <sup>a</sup>	33,33 <sup>a</sup>	80,00 <sup>d-m</sup>
Altigo	43,33 <sup>q-z</sup>	75,83 <sup>c-l</sup>	42,92 <sup>a-t</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>l</sup>	76,67 <sup>d-m</sup>
Ambition	35,42 <sup>f-z</sup>	78,33 <sup>c-l</sup>	49,58 <sup>c-v</sup>	91,67 <sup>c-h</sup>	91,67 <sup>f-i</sup>	71,67 <sup>d-m</sup>
Anthus	53,75 <sup>z</sup>	84,58 <sup>f-l</sup>	70,92 <sup>b-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>l</sup>	91,67 <sup>i-m</sup>
Arkadia	37,00 <sup>j-z</sup>	78,00 <sup>c-l</sup>	18,96 <sup>a-d</sup>	40,00 <sup>ab</sup>	2,00 <sup>a</sup>	18,15 <sup>a-c</sup>
Askalon	26,67 <sup>b-r</sup>	75,83 <sup>c-l</sup>	56,03 <sup>b-v</sup>	88,33 <sup>e-h</sup>	88,33 <sup>e-i</sup>	86,67 <sup>f-m</sup>
Asrtal	37,92 <sup>j-z</sup>	77,08 <sup>c-l</sup>	13,67 <sup>ab</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>l</sup>	51,67 <sup>a-f</sup>
Astoria	29,00 <sup>c-u</sup>	71,00 <sup>c-l</sup>	12,24 <sup>a-d</sup>	40,00 <sup>ab</sup>	15,00 <sup>a</sup>	18,15 <sup>a-c</sup>

Tabela 4. cd.

1	2	3	4	5	6	7
Baletka	29,00 <sup>c-u</sup>	68,00 <sup>b-k</sup>	11,51 <sup>a-d</sup>	68,00 <sup>b-g</sup>	1,30 <sup>a</sup>	28,61 <sup>a-c</sup>
Bamberka	30,42 <sup>d-x</sup>	65,60 <sup>b-j</sup>	34,56 <sup>a-q</sup>	98,33 <sup>g-h</sup>	98,33 <sup>h-i</sup>	48,33 <sup>a-e</sup>
Banderola	30,00 <sup>c-w</sup>	74,70 <sup>c-l</sup>	47,52 <sup>b-v</sup>	93,33 <sup>f-h</sup>	93,33 <sup>f-i</sup>	80,00 <sup>d-m</sup>
Baroko	22,9 <sup>a-m</sup>	76,25 <sup>c-l</sup>	47,55 <sup>b-v</sup>	82,50 <sup>d-h</sup>	82,50 <sup>e-i</sup>	82,50 <sup>e-m</sup>
Baryton	43,20 <sup>q-z</sup>	72,46 <sup>c-l</sup>	45,00 <sup>a-u</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	75,00 <sup>d-m</sup>
Batuta	24,79 <sup>a-p</sup>	78,13 <sup>c-l</sup>	44,73 <sup>a-u</sup>	91,67 <sup>e-h</sup>	91,67 <sup>f-i</sup>	81,67 <sup>e-m</sup>
Bellenus	36,25 <sup>g-z</sup>	80,38 <sup>d-l</sup>	56,97 <sup>f-v</sup>	93,33 <sup>f-h</sup>	93,33 <sup>f-i</sup>	81,67 <sup>e-m</sup>
Benatka Kresowa	42,92 <sup>p-z</sup>	86,25 <sup>h-l</sup>	52,50 <sup>e-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	95,00 <sup>j-m</sup>
Blondynka	38,75 <sup>k-z</sup>	82,50 <sup>f-l</sup>	50,33 <sup>c-v</sup>	98,33 <sup>g-h</sup>	98,33 <sup>h-i</sup>	95,00 <sup>j-m</sup>
Bockris	35,00 <sup>f-z</sup>	79,63 <sup>d-l</sup>	57,11 <sup>f-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	83,33 <sup>e-m</sup>
Bogatka	46,25 <sup>f-z</sup>	88,33 <sup>j-l</sup>	61,75 <sup>h-v</sup>	96,67 <sup>f-h</sup>	96,67 <sup>g-i</sup>	83,33 <sup>e-m</sup>
Boomer	24,17 <sup>a-o</sup>	86,67 <sup>i-l</sup>	55,18 <sup>e-v</sup>	83,33 <sup>d-h</sup>	83,33 <sup>e-i</sup>	80,00 <sup>d-m</sup>
Brilant	24,17 <sup>a-o</sup>	79,58 <sup>d-l</sup>	45,00 <sup>a-u</sup>	85,00 <sup>e-h</sup>	85,00 <sup>e-i</sup>	73,33 <sup>d-m</sup>
Bystra	29,87 <sup>c-u</sup>	81,38 <sup>e-l</sup>	58,13 <sup>f-v</sup>	88,47 <sup>e-h</sup>	88,47 <sup>e-i</sup>	88,50 <sup>g-m</sup>
Centenaire	35,00 <sup>f-z</sup>	82,08 <sup>f-l</sup>	63,00 <sup>f-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	95,00 <sup>j-m</sup>
Crackin	26,67 <sup>b-q</sup>	58,33 <sup>b-d</sup>	17,42 <sup>a-c</sup>	90,00 <sup>e-h</sup>	90,00 <sup>e-i</sup>	30,00 <sup>ab</sup>
Cubus	45,42 <sup>s-z</sup>	70,83 <sup>b-l</sup>	49,83 <sup>c-v</sup>	98,33 <sup>g-h</sup>	98,33 <sup>h-i</sup>	88,33 <sup>g-m</sup>
Dekan	35,00 <sup>f-z</sup>	68,33 <sup>b-l</sup>	60,97 <sup>h-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	83,33 <sup>e-m</sup>
Digger	39,58 <sup>f-z</sup>	90,83 <sup>l</sup>	65,25 <sup>n-v</sup>	98,33 <sup>g-h</sup>	98,33 <sup>h-i</sup>	85,00 <sup>f-m</sup>
Dorota	31,67 <sup>e-x</sup>	64,58 <sup>b-l</sup>	30,58 <sup>a-m</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	68,33 <sup>c-m</sup>
Drifter	31,25 <sup>e-x</sup>	76,67 <sup>c-l</sup>	36,55 <sup>a-r</sup>	98,33 <sup>g-h</sup>	98,33 <sup>h-i</sup>	83,33 <sup>e-m</sup>
Elena	9,17 <sup>a-b</sup>	79,58 <sup>d-l</sup>	72,00 <sup>f-v</sup>	36,67 <sup>ab</sup>	36,67 <sup>ab</sup>	98,33 <sup>lm</sup>
Elipsa	31,00 <sup>c-u</sup>	76,00 <sup>c-l</sup>	14,70 <sup>a-d</sup>	32,00 <sup>ab</sup>	39,00 <sup>ab</sup>	15,16 <sup>a-c</sup>
Esterio	52,50 <sup>z</sup>	72,08 <sup>c-l</sup>	46,08 <sup>b-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	86,67 <sup>f-m</sup>
Estivus	45,00 <sup>r-z</sup>	78,00 <sup>c-l</sup>	23,99 <sup>a-g</sup>	32,00 <sup>ab</sup>	40,00 <sup>ab</sup>	15,16 <sup>a-c</sup>
Expert	37,08 <sup>z</sup>	83,04 <sup>f-l</sup>	64,53 <sup>m-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	88,33 <sup>g-m</sup>
Fidelius	25,00 <sup>a-p</sup>	73,94 <sup>c-l</sup>	32,94 <sup>a-o</sup>	85,00 <sup>e-h</sup>	85,00 <sup>e-i</sup>	58,33 <sup>a-i</sup>
Figura	29,58 <sup>c-u</sup>	70,00 <sup>b-l</sup>	42,58 <sup>a-t</sup>	93,33 <sup>f-h</sup>	93,33 <sup>f-i</sup>	75,00 <sup>d-m</sup>
Finezja	32,92 <sup>e-w</sup>	77,50 <sup>c-l</sup>	48,42 <sup>c-v</sup>	96,67 <sup>f-h</sup>	96,67 <sup>g-i</sup>	80,00 <sup>d-m</sup>
Flair	37,08 <sup>h-z</sup>	73,75 <sup>c-l</sup>	29,75 <sup>a-k</sup>	98,33 <sup>g-h</sup>	98,33 <sup>h-i</sup>	55,00 <sup>a-h</sup>
Flairway	41,67 <sup>n-z</sup>	73,18 <sup>c-l</sup>	41,85 <sup>a-t</sup>	96,67 <sup>f-h</sup>	96,67 <sup>g-i</sup>	63,33 <sup>b-l</sup>
Florett	25,00 <sup>a-o</sup>	68,75 <sup>b-l</sup>	56,58 <sup>c-f-v</sup>	93,33 <sup>f-h</sup>	93,33 <sup>f-i</sup>	90,00 <sup>h-m</sup>
Forkida	28,75 <sup>c-l</sup>	56,12 <sup>b-c</sup>	17,82 <sup>a-d</sup>	88,33 <sup>e-h</sup>	88,33 <sup>e-i</sup>	33,33 <sup>a-c</sup>
Forum	35,00 <sup>f-z</sup>	67,00 <sup>b-k</sup>	15,04 <sup>a-d</sup>	12,00 <sup>ab</sup>	3,00 <sup>ab</sup>	7,69 <sup>a</sup>
Fregata	42,08 <sup>o-z</sup>	77,92 <sup>c-l</sup>	44,37 <sup>a-u</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	88,33 <sup>g-m</sup>
Galvano	29,17 <sup>c-t</sup>	82,50 <sup>f-l</sup>	79,75 <sup>v</sup>	96,67 <sup>f-h</sup>	96,67 <sup>g-i</sup>	100,00 <sup>l</sup>
Garantus	16,67 <sup>a-e</sup>	67,50 <sup>b-k</sup>	41,63 <sup>a-t</sup>	60,00 <sup>a-e</sup>	60,00 <sup>a-e</sup>	76,67 <sup>d-m</sup>
Gecko	23,33 <sup>a-o</sup>	81,67 <sup>e-l</sup>	70,83 <sup>s-v</sup>	85,00 <sup>e-h</sup>	85,00 <sup>e-i</sup>	100,00 <sup>l</sup>
Global	33,75 <sup>f-z</sup>	75,83 <sup>c-l</sup>	53,60 <sup>e-v</sup>	90,00 <sup>e-h</sup>	90,00 <sup>e-i</sup>	78,33 <sup>d-m</sup>
Henrik	29,87 <sup>e-w</sup>	67,81 <sup>b-k</sup>	43,88 <sup>a-u</sup>	87,73 <sup>e-h</sup>	87,73 <sup>e-i</sup>	82,50 <sup>e-m</sup>
Illico	46,67 <sup>u-z</sup>	84,93 <sup>f-l</sup>	63,99 <sup>f-v</sup>	90,00 <sup>e-h</sup>	90,00 <sup>e-i</sup>	85,00 <sup>f-m</sup>
Jantarka	23,75 <sup>a-n</sup>	73,18 <sup>c-l</sup>	49,55 <sup>c-v</sup>	81,67 <sup>d-h</sup>	81,67 <sup>d-i</sup>	76,67 <sup>d-m</sup>
Jenga	32,08 <sup>e-x</sup>	86,25 <sup>h-l</sup>	71,92 <sup>f-v</sup>	96,67 <sup>f-h</sup>	96,67 <sup>g-i</sup>	96,67 <sup>k-m</sup>
Julius	28,33 <sup>c-t</sup>	84,58 <sup>f-l</sup>	68,00 <sup>q-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	95,00 <sup>f-m</sup>
Juma	12,08 <sup>a-c</sup>	84,58 <sup>f-l</sup>	62,83 <sup>t-v</sup>	48,33 <sup>a-c</sup>	48,33 <sup>a-c</sup>	98,33 <sup>lm</sup>

Tabela 4. cd.

1	2	3	4	5	6	7
Kampana	22,93 <sup>a-m</sup>	76,73 <sup>c-l</sup>	51,75 <sup>d-v</sup>	74,67 <sup>c-h</sup>	74,67 <sup>c-i</sup>	79,50 <sup>d-m</sup>
Kaspart	29,58 <sup>c-x</sup>	80,42 <sup>d-l</sup>	68,33 <sup>q-v</sup>	98,33 <sup>g-h</sup>	98,33 <sup>h-i</sup>	100,00 <sup>l</sup>
Katart	29,38 <sup>c-x</sup>	86,46 <sup>h-l</sup>	66,00 <sup>n-v</sup>	92,50 <sup>e-h</sup>	92,50 <sup>f-i</sup>	90,00 <sup>h-m</sup>
Kepler	35,42 <sup>f-z</sup>	78,87 <sup>c-l</sup>	50,49 <sup>e-v</sup>	95,00 <sup>f-h</sup>	95,00 <sup>f-i</sup>	76,67 <sup>d-m</sup>
Kobiera	51,25 <sup>z</sup>	82,08 <sup>f-l</sup>	61,42 <sup>h-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>l</sup>	91,67 <sup>i-m</sup>
Kobra	17,50 <sup>a-f</sup>	79,17 <sup>d-l</sup>	54,00 <sup>e-v</sup>	66,67 <sup>b-g</sup>	66,67 <sup>b-g</sup>	100,00 <sup>l</sup>
Kobra Plus	40,00 <sup>l-z</sup>	80,42 <sup>d-l</sup>	49,33 <sup>c-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>l</sup>	80,00 <sup>d-m</sup>
Kohelia	30,00 <sup>c-w</sup>	75,42 <sup>c-l</sup>	36,83 <sup>a-s</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>l</sup>	95,00 <sup>i-m</sup>
Kolystar	47,92 <sup>w-z</sup>	88,35 <sup>j-l</sup>	73,04 <sup>t-v</sup>	96,67 <sup>f-h</sup>	96,67 <sup>g-i</sup>	96,67 <sup>k-m</sup>
Kranich	37,87 <sup>j-z</sup>	81,76 <sup>e-l</sup>	60,75 <sup>h-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	88,50 <sup>g-m</sup>
Kredo	30,42 <sup>d-x</sup>	83,80 <sup>f-l</sup>	67,77 <sup>p-v</sup>	86,67 <sup>e-h</sup>	86,67 <sup>e-i</sup>	91,67 <sup>i-m</sup>
Kris	32,08 <sup>e-y</sup>	78,33 <sup>c-l</sup>	66,33 <sup>q-v</sup>	95,00 <sup>f-h</sup>	95,00 <sup>f-i</sup>	90,00 <sup>h-m</sup>
Kuban	34,17 <sup>e-z</sup>	84,58 <sup>f-l</sup>	68,17 <sup>q-v</sup>	98,33 <sup>g-h</sup>	98,33 <sup>h-i</sup>	93,33 <sup>i-m</sup>
KWS Dacanto	36,00 <sup>f-z</sup>	78,00 <sup>c-l</sup>	18,33 <sup>a-d</sup>	44,00 <sup>ab</sup>	49,00 <sup>a-c</sup>	19,64 <sup>a-c</sup>
KWS Magic	21,00 <sup>c-u</sup>	74,00 <sup>c-l</sup>	7,94 <sup>a-d</sup>	32,00 <sup>ab</sup>	7,00 <sup>a</sup>	15,16 <sup>a-c</sup>
KWS Ozon	36,67 <sup>h-z</sup>	70,53 <sup>b-l</sup>	45,23 <sup>a-u</sup>	93,33 <sup>f-h</sup>	93,33 <sup>f-i</sup>	66,67 <sup>c-m</sup>
Legenda	46,25 <sup>t-z</sup>	68,75 <sup>b-l</sup>	48,33 <sup>c-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>l</sup>	95,00 <sup>j-m</sup>
Linus	37,00 <sup>j-z</sup>	77,00 <sup>c-l</sup>	18,72 <sup>a-d</sup>	44,00 <sup>ab</sup>	20,00 <sup>a</sup>	19,64 <sup>a-c</sup>
Loyal	27,08 <sup>b-r</sup>	85,00 <sup>g-l</sup>	69,17 <sup>r-v</sup>	95,00 <sup>f-h</sup>	95,00 <sup>f-i</sup>	100,00 <sup>l</sup>
Ludwig	47,50 <sup>v-z</sup>	70,42 <sup>b-l</sup>	30,83 <sup>a-m</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	70,00 <sup>d-m</sup>
Lukullus	30,00 <sup>c-w</sup>	77,73 <sup>c-l</sup>	55,62 <sup>e-v</sup>	98,33 <sup>g-h</sup>	98,33 <sup>h-i</sup>	86,67 <sup>f-m</sup>
Magnatka	31,25 <sup>e-y</sup>	75,00 <sup>c-l</sup>	44,25 <sup>a-u</sup>	96,67 <sup>f-h</sup>	96,67 <sup>g-i</sup>	83,33 <sup>e-m</sup>
Markiza	18,33 <sup>a-g</sup>	75,42 <sup>c-l</sup>	24,07 <sup>a-f</sup>	65,00 <sup>a-f</sup>	65,00 <sup>b-f</sup>	45,00 <sup>a-d</sup>
Meister	31,00 <sup>c-u</sup>	78,00 <sup>c-l</sup>	15,19 <sup>a-d</sup>	40,00 <sup>ab</sup>	13,00 <sup>a</sup>	18,15 <sup>a-c</sup>
Meteor	35,00 <sup>f-z</sup>	85,63 <sup>g-l</sup>	65,25 <sup>n-v</sup>	95,83 <sup>f-h</sup>	95,83 <sup>g-i</sup>	89,17 <sup>h-m</sup>
Mewa	30,00 <sup>c-w</sup>	81,25 <sup>e-l</sup>	33,75 <sup>a-p</sup>	91,67 <sup>e-h</sup>	91,67 <sup>f-i</sup>	60,00 <sup>a-j</sup>
Monsoon	37,50 <sup>l-z</sup>	70,42 <sup>b-l</sup>	47,92 <sup>c-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>l</sup>	85,00 <sup>f-m</sup>
Mulan	39,17 <sup>l-z</sup>	77,50 <sup>c-l</sup>	47,83 <sup>b-v</sup>	98,33 <sup>g-h</sup>	98,33 <sup>h-i</sup>	73,33 <sup>d-m</sup>
Muszelka	32,08 <sup>e-y</sup>	73,75 <sup>c-l</sup>	61,23 <sup>h-v</sup>	96,67 <sup>f-h</sup>	96,67 <sup>g-i</sup>	90,00 <sup>h-m</sup>
Muza	12,97 <sup>a-d</sup>	59,17 <sup>b-e</sup>	28,08 <sup>a-h</sup>	51,67 <sup>a-d</sup>	51,67 <sup>a-d</sup>	63,33 <sup>b-l</sup>
Nadobna	24,58 <sup>a-o</sup>	72,92 <sup>c-l</sup>	38,83 <sup>a-t</sup>	86,67 <sup>e-h</sup>	86,67 <sup>e-i</sup>	70,00 <sup>d-m</sup>
Naridana	35,42 <sup>f-z</sup>	76,67 <sup>c-l</sup>	30,00 <sup>a-l</sup>	96,67 <sup>f-h</sup>	96,67 <sup>g-i</sup>	68,33 <sup>c-m</sup>
Nateja	19,58 <sup>a-j</sup>	66,67 <sup>b-k</sup>	26,17 <sup>a-g</sup>	76,67 <sup>c-h</sup>	76,67 <sup>c-i</sup>	55,00 <sup>a-h</sup>
Natula	20,80 <sup>a-k</sup>	70,91 <sup>b-l</sup>	46,25 <sup>b-v</sup>	72,80 <sup>c-h</sup>	72,80 <sup>c-i</sup>	75,00 <sup>d-m</sup>
Nutka	45,42 <sup>s-z</sup>	63,75 <sup>b-h</sup>	33,75 <sup>a-p</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	76,67 <sup>d-m</sup>
Olivart	38,75 <sup>k-z</sup>	75,83 <sup>c-l</sup>	56,50 <sup>t-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	90,00 <sup>h-m</sup>
Olwin	43,33 <sup>q-z</sup>	78,33 <sup>c-l</sup>	51,75 <sup>d-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	81,67 <sup>e-m</sup>
Operetka	24,00 <sup>a-o</sup>	75,56 <sup>c-l</sup>	49,75 <sup>c-v</sup>	82,13 <sup>d-h</sup>	82,13 <sup>e-i</sup>	81,00 <sup>e-m</sup>
Opus	29,17 <sup>c-u</sup>	78,33 <sup>c-l</sup>	54,00 <sup>e-v</sup>	96,67 <sup>f-h</sup>	96,67 <sup>g-i</sup>	71,67 <sup>d-m</sup>
Ostka Strzelecka	29,17 <sup>c-u</sup>	62,08 <sup>b-f</sup>	31,92 <sup>a-n</sup>	98,33 <sup>g-h</sup>	98,33 <sup>h-i</sup>	68,33 <sup>c-m</sup>
Ostroga	31,25 <sup>e-y</sup>	48,33 <sup>a-b</sup>	28,67 <sup>a-i</sup>	93,33 <sup>f-h</sup>	93,33 <sup>f-i</sup>	51,67 <sup>a-f</sup>
Oxal	32,00 <sup>c-u</sup>	76,00 <sup>c-l</sup>	15,33 <sup>a-d</sup>	32,00 <sup>ab</sup>	10,00 <sup>a</sup>	15,16 <sup>a-c</sup>
Patras	22,00 <sup>c-u</sup>	79,00 <sup>c-l</sup>	9,78 <sup>a-d</sup>	68,00 <sup>b-h</sup>	41,00 <sup>ab</sup>	28,61 <sup>a-c</sup>
Pegassos	24,17 <sup>a-n</sup>	75,42 <sup>c-l</sup>	21,92 <sup>a-e</sup>	91,67 <sup>e-h</sup>	91,67 <sup>f-i</sup>	53,33 <sup>a-g</sup>
Platin	38,00 <sup>j-z</sup>	77,00 <sup>c-l</sup>	19,34 <sup>a-d</sup>	64,00 <sup>b-g</sup>	26,00 <sup>ab</sup>	27,12 <sup>a-c</sup>

Tabela 4. cd.

1	2	3	4	5	6	7
Popstar	26,67 <sup>b-r</sup>	69,77 <sup>b-l</sup>	41,58 <sup>a-t</sup>	85,00 <sup>e-h</sup>	85,00 <sup>e-i</sup>	70,00 <sup>d-m</sup>
Praktik	40,00 <sup>m-z</sup>	75,00 <sup>c-l</sup>	20,12 <sup>a-d</sup>	44,00 <sup>ab</sup>	58,00 <sup>a-c</sup>	19,64 <sup>a-c</sup>
Profilus	46,40 <sup>t-z</sup>	85,25 <sup>g-l</sup>	59,94 <sup>g-v</sup>	99,27 <sup>gh</sup>	99,27 <sup>i</sup>	82,50 <sup>e-m</sup>
Quibon	20,42 <sup>a-j</sup>	76,67 <sup>c-l</sup>	64,42 <sup>m-v</sup>	86,67 <sup>e-h</sup>	86,67 <sup>e-i</sup>	60,00 <sup>a-j</sup>
Rapsodia	48,75 <sup>y-w</sup>	72,50 <sup>c-l</sup>	55,25 <sup>e-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	91,67 <sup>l-m</sup>
Rochvord	32,53 <sup>e-y</sup>	73,24 <sup>c-l</sup>	50,25 <sup>c-v</sup>	84,00 <sup>d-h</sup>	84,00 <sup>e-i</sup>	78,00 <sup>d-m</sup>
Rockstar	31,25 <sup>e-y</sup>	70,53 <sup>b-l</sup>	41,72 <sup>a-t</sup>	90,00 <sup>e-h</sup>	90,00 <sup>e-i</sup>	66,67 <sup>c-m</sup>
Roma	40,42 <sup>l-z</sup>	76,25 <sup>c-l</sup>	59,47 <sup>g-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	100,00 <sup>l</sup>
Rubens	32,50 <sup>e-y</sup>	78,33 <sup>c-l</sup>	56,25 <sup>f-v</sup>	93,33 <sup>f-h</sup>	93,33 <sup>f-i</sup>	88,33 <sup>g-m</sup>
Rysa	30,42 <sup>d-x</sup>	89,17 <sup>k-l</sup>	80,00 <sup>v</sup>	95,00 <sup>f-h</sup>	95,00 <sup>f-i</sup>	98,33 <sup>lm</sup>
Rywalka	26,25 <sup>a-q</sup>	85,00 <sup>g-l</sup>	44,98 <sup>a-u</sup>	86,67 <sup>e-h</sup>	86,67 <sup>e-i</sup>	78,33 <sup>d-m</sup>
Sailor	31,00 <sup>c-u</sup>	75,00 <sup>c-l</sup>	14,46 <sup>a-d</sup>	80,00 <sup>c-h</sup>	54,00 <sup>a-c</sup>	33,09 <sup>a-c</sup>
Sakwa	35,83 <sup>g-z</sup>	64,17 <sup>b-l</sup>	47,85 <sup>b-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	75,00 <sup>d-m</sup>
Samurai	32,50 <sup>e-y</sup>	75,08 <sup>c-l</sup>	47,52 <sup>b-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	66,67 <sup>c-m</sup>
Satyna	37,92 <sup>j-z</sup>	56,25 <sup>b-c</sup>	34,75 <sup>a-q</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	66,67 <sup>c-m</sup>
Scor	28,75 <sup>c-u</sup>	77,35 <sup>c-l</sup>	52,52 <sup>e-v</sup>	90,00 <sup>e-h</sup>	90,00 <sup>e-i</sup>	71,67 <sup>d-m</sup>
Skagen	22,92 <sup>a-m</sup>	63,33 <sup>b-g</sup>	33,17 <sup>a-o</sup>	86,67 <sup>e-h</sup>	86,67 <sup>e-i</sup>	60,00 <sup>a-j</sup>
Slade	20,00 <sup>a-j</sup>	70,42 <sup>b-l</sup>	57,33 <sup>f-v</sup>	76,67 <sup>c-h</sup>	76,67 <sup>c-i</sup>	75,00 <sup>d-m</sup>
Smuga	32,50 <sup>e-x</sup>	78,33 <sup>c-l</sup>	49,83 <sup>c-v</sup>	95,00 <sup>f-h</sup>	95,00 <sup>f-i</sup>	83,33 <sup>e-m</sup>
Speedway	31,00 <sup>c-u</sup>	78,00 <sup>c-l</sup>	15,19 <sup>a-d</sup>	68,00 <sup>b-h</sup>	22,00 <sup>a</sup>	28,61 <sup>a-c</sup>
Sukces	29,17 <sup>c-u</sup>	77,50 <sup>c-l</sup>	33,29 <sup>a-o</sup>	95,00 <sup>f-h</sup>	95,00 <sup>f-i</sup>	61,67 <sup>b-k</sup>
Symfonia	36,25 <sup>g-z</sup>	71,67 <sup>c-l</sup>	42,92 <sup>a-t</sup>	98,33 <sup>gh</sup>	98,33 <sup>h-i</sup>	75,00 <sup>d-m</sup>
Szmaragd	44,58 <sup>f-z</sup>	81,52 <sup>e-l</sup>	63,18 <sup>k-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	93,33 <sup>i-m</sup>
Tacitus	29,58 <sup>c-v</sup>	76,21 <sup>c-l</sup>	43,20 <sup>a-t</sup>	93,33 <sup>f-h</sup>	93,33 <sup>f-i</sup>	70,00 <sup>d-m</sup>
Tonacja	23,75 <sup>a-n</sup>	85,83 <sup>g-l</sup>	62,83 <sup>f-v</sup>	86,67 <sup>e-h</sup>	86,67 <sup>e-i</sup>	95,00 <sup>j-m</sup>
Toras	35,00 <sup>f-z</sup>	82,08 <sup>f-l</sup>	54,17 <sup>e-v</sup>	98,33 <sup>gh</sup>	98,33 <sup>h-i</sup>	78,33 <sup>d-m</sup>
Torrild	22,50 <sup>a-l</sup>	77,73 <sup>c-l</sup>	48,33 <sup>c-v</sup>	76,67 <sup>c-h</sup>	76,67 <sup>c-i</sup>	73,33 <sup>d-m</sup>
Trend	29,17 <sup>c-u</sup>	77,08 <sup>c-l</sup>	28,83 <sup>a-j</sup>	95,00 <sup>f-h</sup>	95,00 <sup>f-i</sup>	58,33 <sup>a-i</sup>
Tuereg	22,92 <sup>a-m</sup>	80,42 <sup>d-l</sup>	58,17 <sup>f-v</sup>	85,00 <sup>e-h</sup>	85,00 <sup>e-i</sup>	81,67 <sup>e-m</sup>
Tulecka	38,00 <sup>j-z</sup>	76,00 <sup>c-l</sup>	19,10 <sup>a-d</sup>	76,00 <sup>c-h</sup>	23,00 <sup>a</sup>	31,60 <sup>a-c</sup>
Turkis	60,83 <sup>z</sup>	83,75 <sup>f-l</sup>	66,00 <sup>a-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	81,67 <sup>e-m</sup>
Turnia	47,50 <sup>v-z</sup>	75,83 <sup>c-l</sup>	53,25 <sup>e-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	95,00 <sup>i-m</sup>
Wybred	48,00 <sup>m-z</sup>	81,00 <sup>d-l</sup>	26,60 <sup>a-i</sup>	60,00 <sup>a-e</sup>	37,00 <sup>ab</sup>	25,62 <sup>a-c</sup>
Wydma	48,33 <sup>x-z</sup>	85,42 <sup>g-l</sup>	51,17 <sup>c-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	81,67 <sup>e-m</sup>
Wysoko- litewka	28,75 <sup>c-u</sup>	78,33 <sup>c-l</sup>	55,75 <sup>e-v</sup>	91,67 <sup>e-h</sup>	91,67 <sup>f-i</sup>	88,33 <sup>g-m</sup>
Zawisza	40,83 <sup>m-z</sup>	83,75 <sup>f-l</sup>	62,75 <sup>f-v</sup>	100,00 <sup>h</sup>	100,00 <sup>i</sup>	81,67 <sup>e-m</sup>
Zobel	24,58 <sup>a-o</sup>	83,33 <sup>f-l</sup>	64,00 <sup>f-v</sup>	80,00 <sup>c-h</sup>	80,00 <sup>d-i</sup>	96,67 <sup>k-m</sup>
Zyta	19,17 <sup>a-h</sup>	69,58 <sup>b-l</sup>	37,13 <sup>a-s</sup>	68,33 <sup>b-h</sup>	68,33 <sup>c-h</sup>	60,00 <sup>a-j</sup>

<sup>1</sup> Wartości oznaczone tymi samymi literami w kolumnach, nie różnią się istotnie przy poziomie istotności  $\alpha=0,05$

Tabela 5. Nasilenie objawów chorobowych na odmianach roślin pszenicy spowodowanych przez *R. solani* w teście bibułowym

Odmiana	Indeks chorobowy (%)			% roślin z objawami porażenia		
	korzenie	podstawa pędu	liście	korzenie	podstawa pędu	liście
1	2	3	4	5	6	7
Adagio	8,05 <sup>a-p</sup>	57,53 <sup>b-t</sup>	8,40 <sup>a-e</sup>	8,05 <sup>a-p</sup>	86,67 <sup>a-d</sup>	12,90 <sup>a-g</sup>
Adegnat	7,92 <sup>a-p</sup>	64,17 <sup>d-x</sup>	12,92 <sup>a-g</sup>	7,92 <sup>a-p</sup>	100,00 <sup>d</sup>	38,33 <sup>b-o</sup>
Adler	12,50 <sup>b-w</sup>	51,25 <sup>a-o</sup>	6,67 <sup>a-e</sup>	12,50 <sup>b-w</sup>	98,33 <sup>cd</sup>	11,67 <sup>a-f</sup>
Akratos	17,92 <sup>m-y</sup>	67,08 <sup>b-y</sup>	22,92 <sup>a-l</sup>	17,92 <sup>m-y</sup>	96,67 <sup>cd</sup>	48,33 <sup>f-o</sup>
Akteur	9,17 <sup>a-s</sup>	66,67 <sup>s-y</sup>	18,17 <sup>a-k</sup>	9,17 <sup>a-s</sup>	100,00 <sup>d</sup>	50,00 <sup>s-o</sup>
Alba	19,58 <sup>p-y</sup>	66,25 <sup>f-y</sup>	11,42 <sup>a-f</sup>	19,58 <sup>p-y</sup>	100,00 <sup>d</sup>	20,00 <sup>a-j</sup>
Alcazar	1,67 <sup>a-d</sup>	47,92 <sup>a-j</sup>	6,33 <sup>a-e</sup>	1,67 <sup>a-d</sup>	95,00 <sup>b-d</sup>	20,00 <sup>a-j</sup>
Almari	19,58 <sup>p-y</sup>	59,58 <sup>c-v</sup>	23,67 <sup>a-m</sup>	19,58 <sup>p-y</sup>	100,00 <sup>d</sup>	60,00 <sup>l-p</sup>
Altigo	18,75 <sup>n-y</sup>	39,17 <sup>ab</sup>	1,00 <sup>a-c</sup>	18,75 <sup>n-y</sup>	78,33 <sup>ab</sup>	5,00 <sup>a-d</sup>
Ambition	15,21 <sup>i-w</sup>	51,46 <sup>a-k</sup>	4,79 <sup>a-c</sup>	15,21 <sup>i-x</sup>	99,17 <sup>d</sup>	10,00 <sup>a-e</sup>
Anthus	3,75 <sup>a-j</sup>	58,33 <sup>b-u</sup>	4,42 <sup>a-d</sup>	3,75 <sup>a-j</sup>	98,33 <sup>cd</sup>	18,33 <sup>a-h</sup>
Arkadia	17,00 <sup>i-y</sup>	97,00 <sup>xy</sup>	10,62 <sup>a-f</sup>	1,00 <sup>ab</sup>	98,00 <sup>cd</sup>	3,48 <sup>a-c</sup>
Askalon	10,64 <sup>a-v</sup>	62,79 <sup>c-x</sup>	10,27 <sup>a-f</sup>	10,64 <sup>a-v</sup>	98,33 <sup>cd</sup>	38,70 <sup>b-o</sup>
Astoria	17,00 <sup>i-y</sup>	94,00 <sup>xy</sup>	9,05 <sup>a-e</sup>	20,00 <sup>r-y</sup>	94,00 <sup>b-d</sup>	10,74 <sup>a-e</sup>
Astral	26,67 <sup>y</sup>	73,33 <sup>p-y</sup>	23,50 <sup>a-m</sup>	26,67 <sup>y</sup>	98,33 <sup>cd</sup>	38,33 <sup>b-o</sup>
Baletka	13,00 <sup>b-w</sup>	94,00 <sup>xy</sup>	7,33 <sup>a-e</sup>	40,00 <sup>x-y</sup>	91,00 <sup>a-d</sup>	18,01 <sup>a-j</sup>
Bamberka	7,19 <sup>a-n</sup>	47,67 <sup>a-j</sup>	0,70 <sup>ab</sup>	7,19 <sup>a-n</sup>	90,00 <sup>a-d</sup>	8,60 <sup>a-e</sup>
Banderola	8,91 <sup>a-r</sup>	58,21 <sup>b-u</sup>	2,80 <sup>a-d</sup>	8,91 <sup>a-r</sup>	93,33 <sup>b-d</sup>	8,60 <sup>a-e</sup>
Barrokko	17,92 <sup>m-y</sup>	47,50 <sup>a-i</sup>	0,33 <sup>ab</sup>	17,92 <sup>m-y</sup>	93,33 <sup>b-d</sup>	1,67 <sup>ab</sup>
Baryton	20,21 <sup>r-y</sup>	62,67 <sup>c-x</sup>	10,55 <sup>a-f</sup>	20,21 <sup>r-y</sup>	100,00 <sup>d</sup>	22,95 <sup>a-l</sup>
Batuta	2,08 <sup>a-e</sup>	49,58 <sup>a-l</sup>	0,00 <sup>a</sup>	2,08 <sup>a-e</sup>	96,67 <sup>cd</sup>	0,00 <sup>a</sup>
Bellenus	12,65 <sup>b-w</sup>	56,38 <sup>a-r</sup>	6,30 <sup>a-e</sup>	12,65 <sup>b-w</sup>	95,00 <sup>b-d</sup>	12,90 <sup>a-g</sup>
Benatka						
Kresowa	22,50 <sup>v-y</sup>	71,25 <sup>o-y</sup>	24,33 <sup>b-m</sup>	22,50 <sup>v-y</sup>	98,33 <sup>cd</sup>	35,00 <sup>a-o</sup>
Blondynka	16,67 <sup>i-y</sup>	80,42 <sup>w-y</sup>	37,33 <sup>b-m</sup>	16,67 <sup>i-y</sup>	100,00 <sup>d</sup>	58,33 <sup>k-p</sup>
Bockris	8,91 <sup>a-r</sup>	51,33 <sup>a-o</sup>	1,40 <sup>a-c</sup>	8,91 <sup>a-r</sup>	98,33 <sup>cd</sup>	8,60 <sup>a-e</sup>
Bogatka	7,50 <sup>a-o</sup>	62,92 <sup>d-x</sup>	0,17 <sup>ab</sup>	7,50 <sup>a-o</sup>	100,00 <sup>d</sup>	1,67 <sup>ab</sup>
Boomer	1,25 <sup>a-c</sup>	51,67 <sup>a-o</sup>	1,50 <sup>a-c</sup>	1,25 <sup>a-c</sup>	100,00 <sup>d</sup>	1,67 <sup>ab</sup>
Brillant	13,33 <sup>d-x</sup>	65,00 <sup>d-x</sup>	23,83 <sup>a-m</sup>	13,33 <sup>d-x</sup>	96,67 <sup>cd</sup>	40,00 <sup>c-o</sup>
Bystra	12,08 <sup>a-w</sup>	70,00 <sup>m-y</sup>	13,43 <sup>a-h</sup>	12,08 <sup>a-w</sup>	100,00 <sup>d</sup>	23,44 <sup>a-l</sup>
Centeire	20,83 <sup>s-y</sup>	60,00 <sup>c-v</sup>	9,17 <sup>a-e</sup>	20,83 <sup>s-y</sup>	100,00 <sup>d</sup>	15,00 <sup>a-h</sup>
Crackin	15,00 <sup>h-y</sup>	57,50 <sup>b-t</sup>	3,17 <sup>a-d</sup>	15,00 <sup>h-y</sup>	93,33 <sup>b-d</sup>	15,00 <sup>a-h</sup>
Cubus	13,75 <sup>e-x</sup>	63,75 <sup>d-x</sup>	3,92 <sup>a-d</sup>	13,75 <sup>e-x</sup>	98,33 <sup>cd</sup>	18,33 <sup>a-h</sup>
Dekan	10,00 <sup>a-t</sup>	67,08 <sup>h-y</sup>	22,83 <sup>a-l</sup>	10,00 <sup>a-t</sup>	100,00 <sup>d</sup>	38,33 <sup>b-o</sup>
Digger	7,50 <sup>a-o</sup>	55,83 <sup>a-r</sup>	8,67 <sup>a-e</sup>	7,50 <sup>a-o</sup>	100,00 <sup>d</sup>	18,33 <sup>a-h</sup>
Dorota	0,42 <sup>a</sup>	53,33 <sup>a-p</sup>	3,75 <sup>a-d</sup>	0,42 <sup>a</sup>	100,00 <sup>d</sup>	11,67 <sup>a-f</sup>
Drifter	15,00 <sup>h-y</sup>	59,17 <sup>b-v</sup>	13,83 <sup>a-i</sup>	15,00 <sup>h-y</sup>	91,67 <sup>a-d</sup>	21,67 <sup>a-k</sup>
Elena	18,33 <sup>m-y</sup>	58,33 <sup>b-u</sup>	18,37 <sup>a-k</sup>	18,33 <sup>m-y</sup>	100,00 <sup>d</sup>	65,00 <sup>m-q</sup>
Elipsa	16,00 <sup>i-y</sup>	98,00 <sup>xy</sup>	10,51 <sup>a-f</sup>	12,00 <sup>b-w</sup>	97,00 <sup>cd</sup>	7,84 <sup>a-e</sup>
Estero	21,67 <sup>t-y</sup>	78,75 <sup>v-y</sup>	37,67 <sup>l-m</sup>	21,67 <sup>t-y</sup>	100,00 <sup>d</sup>	56,67 <sup>j-p</sup>
Estivus	13,00 <sup>b-w</sup>	95,00 <sup>xy</sup>	7,65 <sup>a-e</sup>	4,00 <sup>a-k</sup>	91,00 <sup>a-d</sup>	4,93 <sup>a-d</sup>

Tabela 5. cd.

1	2	3	4	5	6	7
Expert	14,66 <sup>g-x</sup>	56,83 <sup>a-s</sup>	11,20 <sup>a-f</sup>	14,66 <sup>g-x</sup>	98,33 <sup>cd</sup>	34,40 <sup>a-o</sup>
Fidelius	4,03 <sup>a-k</sup>	49,96 <sup>a-m</sup>	2,33 <sup>a-d</sup>	4,03 <sup>a-k</sup>	90,00 <sup>a-d</sup>	12,90 <sup>a-g</sup>
Figura	6,67 <sup>a-m</sup>	53,33 <sup>a-p</sup>	1,50 <sup>a-c</sup>	6,67 <sup>a-m</sup>	96,67 <sup>cd</sup>	5,00 <sup>a-d</sup>
Finezja	2,08 <sup>a-e</sup>	57,92 <sup>b-t</sup>	1,67 <sup>a-d</sup>	2,08 <sup>a-e</sup>	100,00 <sup>d</sup>	3,33 <sup>a-c</sup>
Flair	9,17 <sup>a-s</sup>	50,83 <sup>a-n</sup>	0,17 <sup>ab</sup>	9,17 <sup>a-s</sup>	100,00 <sup>d</sup>	1,67 <sup>ab</sup>
Flairway	18,69 <sup>n-y</sup>	37,13 <sup>a</sup>	2,80 <sup>a-d</sup>	18,69 <sup>n-y</sup>	81,67 <sup>a-c</sup>	8,60 <sup>a-e</sup>
Floertt	20,00 <sup>q-y</sup>	57,92 <sup>b-t</sup>	11,17 <sup>a-f</sup>	20,00 <sup>q-y</sup>	95,00 <sup>b-d</sup>	18,33 <sup>a-h</sup>
Forkida	7,19 <sup>a-n</sup>	47,67 <sup>a-j</sup>	0,00 <sup>a</sup>	7,19 <sup>a-n</sup>	95,00 <sup>b-d</sup>	0,00 <sup>a</sup>
Forum	13,00 <sup>b-w</sup>	96,00 <sup>xy</sup>	7,97 <sup>a-e</sup>	4,00 <sup>a-k</sup>	96,00 <sup>cd</sup>	4,93 <sup>a-d</sup>
Fregata	2,92 <sup>a-g</sup>	58,33 <sup>b-u</sup>	1,83 <sup>a-d</sup>	2,92 <sup>a-g</sup>	100,00 <sup>d</sup>	10,00 <sup>a-e</sup>
Galwani	19,17 <sup>o-y</sup>	53,75 <sup>a-p</sup>	2,42 <sup>a-d</sup>	19,17 <sup>o-y</sup>	96,67 <sup>cd</sup>	8,33 <sup>a-e</sup>
Garantus	2,08 <sup>a-e</sup>	48,75 <sup>a-k</sup>	0,33 <sup>ab</sup>	2,08 <sup>a-e</sup>	95,00 <sup>b-d</sup>	1,67 <sup>ab</sup>
Gecko	21,25 <sup>t-y</sup>	64,17 <sup>d-x</sup>	15,42 <sup>a-j</sup>	21,25 <sup>t-y</sup>	91,67 <sup>a-d</sup>	21,67 <sup>a-k</sup>
Global	15,53 <sup>i-y</sup>	55,00 <sup>a-q</sup>	0,00 <sup>a</sup>	15,53 <sup>i-y</sup>	88,33 <sup>a-d</sup>	0,00 <sup>a</sup>
Henrik	12,08 <sup>a-w</sup>	67,00 <sup>b-y</sup>	12,54 <sup>a-f</sup>	12,08 <sup>a-w</sup>	100,00 <sup>d</sup>	24,91 <sup>a-l</sup>
Illico	14,66 <sup>g-x</sup>	64,17 <sup>d-x</sup>	20,53 <sup>a-l</sup>	14,66 <sup>g-x</sup>	98,33 <sup>cd</sup>	34,40 <sup>a-o</sup>
Jantarka	8,05 <sup>a-p</sup>	45,83 <sup>a-e</sup>	0,00 <sup>a</sup>	8,05 <sup>a-p</sup>	90,00 <sup>a-d</sup>	0,00 <sup>a</sup>
Jenga	2,50 <sup>a-f</sup>	61,67 <sup>c-x</sup>	3,50 <sup>a-d</sup>	2,50 <sup>a-f</sup>	98,33 <sup>cd</sup>	20,00 <sup>a-j</sup>
Julius	16,67 <sup>i-y</sup>	61,25 <sup>c-w</sup>	7,27 <sup>a-e</sup>	16,67 <sup>i-y</sup>	98,33 <sup>cd</sup>	20,00 <sup>a-j</sup>
Juma	13,33 <sup>d-x</sup>	60,00 <sup>c-v</sup>	25,17 <sup>c-m</sup>	13,33 <sup>d-x</sup>	100,00 <sup>d</sup>	68,33 <sup>n-q</sup>
Kampana	13,13 <sup>d-w</sup>	60,33 <sup>c-w</sup>	9,88 <sup>a-f</sup>	13,13 <sup>d-w</sup>	100,00 <sup>d</sup>	20,51 <sup>a-j</sup>
Kaspart	18,75 <sup>n-y</sup>	55,42 <sup>a-q</sup>	3,67 <sup>a-d</sup>	18,75 <sup>n-y</sup>	96,67 <sup>cd</sup>	6,67 <sup>a-e</sup>
Katart	15,42 <sup>i-y</sup>	61,67 <sup>c-x</sup>	11,92 <sup>a-f</sup>	15,42 <sup>i-y</sup>	100,00 <sup>d</sup>	18,33 <sup>a-h</sup>
Kepler	12,36 <sup>b-w</sup>	42,63 <sup>a-c</sup>	2,33 <sup>a-d</sup>	12,36 <sup>b-w</sup>	91,67 <sup>a-d</sup>	8,60 <sup>a-e</sup>
Kobiera	1,67 <sup>a-d</sup>	51,67 <sup>a-o</sup>	1,67 <sup>a-d</sup>	1,67 <sup>a-d</sup>	100,00 <sup>d</sup>	3,33 <sup>a-c</sup>
Kobra	18,33 <sup>m-y</sup>	63,75 <sup>d-x</sup>	36,83 <sup>g-m</sup>	18,33 <sup>m-y</sup>	100,00 <sup>d</sup>	58,33 <sup>k-p</sup>
Kobra Plus	20,83 <sup>s-y</sup>	74,58 <sup>q-y</sup>	12,92 <sup>a-g</sup>	20,83 <sup>s-y</sup>	100,00 <sup>d</sup>	23,33 <sup>a-l</sup>
Kohelia	13,75 <sup>e-x</sup>	57,50 <sup>b-t</sup>	0,00 <sup>a</sup>	13,75 <sup>e-x</sup>	100,00 <sup>d</sup>	0,00 <sup>a</sup>
Kolystar	8,34 <sup>a-q</sup>	54,08 <sup>a-p</sup>	28,70 <sup>e-m</sup>	8,34 <sup>a-q</sup>	100,00 <sup>d</sup>	51,60 <sup>b-o</sup>
Kranich	11,88 <sup>a-w</sup>	70,67 <sup>n-y</sup>	14,50 <sup>a-i</sup>	11,88 <sup>a-w</sup>	100,00 <sup>d</sup>	25,88 <sup>a-l</sup>
Kredo	13,23 <sup>d-x</sup>	66,46 <sup>f-y</sup>	14,47 <sup>a-i</sup>	13,23 <sup>d-x</sup>	100,00 <sup>d</sup>	34,40 <sup>a-o</sup>
Kris	1,67 <sup>a-d</sup>	46,67 <sup>a-g</sup>	0,03 <sup>a</sup>	1,67 <sup>a-d</sup>	96,67 <sup>cd</sup>	1,67 <sup>ab</sup>
Kuban	22,08 <sup>u-y</sup>	60,83 <sup>c-w</sup>	12,17 <sup>a-f</sup>	22,08 <sup>u-y</sup>	91,67 <sup>a-d</sup>	21,67 <sup>a-k</sup>
KWS Dacanto	17,00 <sup>i-y</sup>	93,00 <sup>xy</sup>	8,53 <sup>a-e</sup>	24,00 <sup>x-y</sup>	97,00 <sup>cd</sup>	12,19 <sup>a-g</sup>
KWS Magic	13,00 <sup>b-w</sup>	95,00 <sup>xy</sup>	7,65 <sup>a-e</sup>	12,00 <sup>b-w</sup>	97,00 <sup>cd</sup>	7,84 <sup>a-e</sup>
KWS Ozon	11,79 <sup>a-w</sup>	53,17 <sup>a-p</sup>	2,57 <sup>a-d</sup>	11,79 <sup>a-w</sup>	93,33 <sup>b-d</sup>	12,90 <sup>a-g</sup>
Legenda	9,17 <sup>a-s</sup>	64,58 <sup>d-x</sup>	14,67 <sup>a-j</sup>	9,17 <sup>a-s</sup>	96,67 <sup>cd</sup>	33,33 <sup>a-n</sup>
Linus	5,00 <sup>a-k</sup>	98,00 <sup>xy</sup>	3,51 <sup>a-e</sup>	5,00 <sup>ab</sup>	89,00 <sup>a-d</sup>	3,48 <sup>a-c</sup>
Loyal	19,58 <sup>p-y</sup>	68,75 <sup>k-y</sup>	18,33 <sup>a-k</sup>	19,58 <sup>p-y</sup>	100,00 <sup>d</sup>	33,33 <sup>a-n</sup>
Ludwig	1,67 <sup>a-d</sup>	57,08 <sup>a-s</sup>	1,83 <sup>a-d</sup>	1,67 <sup>a-d</sup>	100,00 <sup>d</sup>	6,67 <sup>a-e</sup>
Lukullus	19,26 <sup>o-y</sup>	78,38 <sup>u-y</sup>	22,40 <sup>a-l</sup>	19,26 <sup>o-y</sup>	96,67 <sup>cd</sup>	34,40 <sup>a-o</sup>
Magnatka	10,00 <sup>a-t</sup>	67,92 <sup>f-y</sup>	22,17 <sup>a-l</sup>	10,00 <sup>a-t</sup>	100,00 <sup>d</sup>	41,67 <sup>d-o</sup>
Markiza	8,33 <sup>a-q</sup>	46,25 <sup>a-f</sup>	0,00 <sup>a</sup>	8,33 <sup>a-q</sup>	95,00 <sup>b-d</sup>	0,00 <sup>a</sup>
Meister	9,00 <sup>a-s</sup>	85,00 <sup>xy</sup>	4,63 <sup>a-d</sup>	20,00 <sup>f-y</sup>	94,00 <sup>b-d</sup>	10,74 <sup>a-e</sup>
Meteor	1,67 <sup>a-d</sup>	53,75 <sup>a-p</sup>	7,75 <sup>a-e</sup>	1,67 <sup>a-d</sup>	100,00 <sup>d</sup>	16,67 <sup>a-h</sup>

Tabela 5. cd.

1	2	3	4	5	6	7
Mewa	10,42 <sup>a-u</sup>	47,92 <sup>a-j</sup>	0,00 <sup>a</sup>	10,42 <sup>a-u</sup>	75,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
Monsoon	26,67 <sup>y</sup>	76,67 <sup>s-y</sup>	33,50 <sup>f-m</sup>	26,67 <sup>y</sup>	98,33 <sup>cd</sup>	48,33 <sup>f-o</sup>
Mulan	7,08 <sup>a-n</sup>	57,08 <sup>a-s</sup>	0,83 <sup>ab</sup>	7,08 <sup>a-n</sup>	96,67 <sup>cd</sup>	10,00 <sup>a-e</sup>
Muszelka	13,75 <sup>e-x</sup>	55,83 <sup>a-r</sup>	1,67 <sup>a-d</sup>	13,75 <sup>e-x</sup>	95,00 <sup>b-d</sup>	6,67 <sup>a-e</sup>
Nadobna	7,92 <sup>a-p</sup>	66,25 <sup>f-y</sup>	4,67 <sup>a-e</sup>	7,92 <sup>a-p</sup>	98,33 <sup>cd</sup>	13,33 <sup>a-g</sup>
Naridana	2,50 <sup>a-f</sup>	62,08 <sup>a-x</sup>	0,67 <sup>ab</sup>	2,50 <sup>a-f</sup>	98,33 <sup>cd</sup>	5,00 <sup>a-d</sup>
Nateja	1,67 <sup>a-d</sup>	47,08 <sup>a-h</sup>	0,17 <sup>ab</sup>	1,67 <sup>a-d</sup>	100,00 <sup>d</sup>	1,67 <sup>ab</sup>
Natula	14,17 <sup>f-x</sup>	67,67 <sup>i-y</sup>	12,10 <sup>a-f</sup>	14,17 <sup>f-x</sup>	100,00 <sup>d</sup>	24,42 <sup>a-l</sup>
Nutka	8,75 <sup>a-r</sup>	50,00 <sup>a-m</sup>	0,47 <sup>ab</sup>	8,75 <sup>a-r</sup>	95,00 <sup>b-d</sup>	5,00 <sup>a-d</sup>
Oliwart	23,33 <sup>w-y</sup>	75,83 <sup>r-y</sup>	11,92 <sup>a-f</sup>	23,33 <sup>w-y</sup>	100,00 <sup>d</sup>	30,00 <sup>a-m</sup>
Olwin	12,92 <sup>c-w</sup>	63,33 <sup>d-x</sup>	15,42 <sup>a-j</sup>	12,92 <sup>c-w</sup>	98,33 <sup>cd</sup>	23,33 <sup>a-l</sup>
Operetka	13,13 <sup>d-w</sup>	64,00 <sup>d-x</sup>	11,18 <sup>a-f</sup>	13,13 <sup>d-w</sup>	100,00 <sup>d</sup>	20,51 <sup>a-j</sup>
Opus	14,58 <sup>g-x</sup>	70,42 <sup>n-y</sup>	22,68 <sup>a-l</sup>	14,58 <sup>g-x</sup>	100,00 <sup>d</sup>	41,67 <sup>d-o</sup>
Ostroga	1,67 <sup>a-d</sup>	45,42 <sup>a-d</sup>	0,00 <sup>a</sup>	1,67 <sup>a-d</sup>	93,33 <sup>b-d</sup>	0,00 <sup>a</sup>
Oxal	8,00 <sup>a-p</sup>	97,00 <sup>xy</sup>	5,36 <sup>a-e</sup>	8,00 <sup>a-p</sup>	92,00 <sup>b-d</sup>	6,38 <sup>a-e</sup>
Patras	12,00 <sup>b-w</sup>	97,00 <sup>xy</sup>	7,70 <sup>a-e</sup>	12,00 <sup>ab</sup>	92,00 <sup>b-d</sup>	4,93 <sup>a-c</sup>
Pegassos	15,00 <sup>h-y</sup>	66,25 <sup>f-y</sup>	5,25 <sup>a-e</sup>	15,00 <sup>h-y</sup>	100,00 <sup>d</sup>	10,00 <sup>a-e</sup>
Platin	15,00 <sup>i-y</sup>	97,00 <sup>xy</sup>	9,45 <sup>a-e</sup>	20,00 <sup>r-y</sup>	92,00 <sup>b-d</sup>	10,74 <sup>a-e</sup>
Popstar	11,79 <sup>a-w</sup>	56,38 <sup>a-r</sup>	8,40 <sup>a-e</sup>	11,79 <sup>a-w</sup>	88,33 <sup>a-d</sup>	21,50 <sup>a-k</sup>
Praktik	15,00 <sup>i-y</sup>	94,00 <sup>xy</sup>	8,19 <sup>a-e</sup>	20,00 <sup>r-y</sup>	100,00 <sup>d</sup>	10,74 <sup>a-e</sup>
Profilus	13,96 <sup>f-x</sup>	57,00 <sup>a-s</sup>	8,99 <sup>a-e</sup>	13,96 <sup>f-x</sup>	100,00 <sup>d</sup>	18,56 <sup>a-i</sup>
Quibon	19,17 <sup>o-y</sup>	67,08 <sup>h-y</sup>	20,67 <sup>a-l</sup>	19,17 <sup>o-y</sup>	100,00 <sup>d</sup>	36,67 <sup>a-o</sup>
Rapsodia	20,83 <sup>s-y</sup>	52,50 <sup>a-o</sup>	1,30 <sup>a-c</sup>	20,83 <sup>s-y</sup>	96,67 <sup>cd</sup>	6,67 <sup>a-e</sup>
Rochvord	12,29 <sup>b-w</sup>	59,00 <sup>b-v</sup>	9,03 <sup>a-e</sup>	12,29 <sup>b-w</sup>	100,00 <sup>d</sup>	19,53 <sup>a-j</sup>
Rockstar	5,75 <sup>a-l</sup>	52,25 <sup>a-o</sup>	4,20 <sup>a-d</sup>	5,75 <sup>a-l</sup>	96,67 <sup>cd</sup>	12,90 <sup>a-g</sup>
Roma	21,67 <sup>t-y</sup>	62,50 <sup>c-x</sup>	38,83 <sup>f-m</sup>	21,67 <sup>t-y</sup>	100,00 <sup>d</sup>	60,00 <sup>l-p</sup>
Rubens	17,50 <sup>l-y</sup>	61,25 <sup>c-w</sup>	17,83 <sup>a-k</sup>	17,50 <sup>l-y</sup>	98,33 <sup>cd</sup>	26,67 <sup>a-l</sup>
Rysa	22,50 <sup>v-y</sup>	65,83 <sup>e-y</sup>	13,17 <sup>a-h</sup>	22,50 <sup>v-y</sup>	100,00 <sup>d</sup>	21,67 <sup>a-k</sup>
Rywalka	5,42 <sup>a-k</sup>	55,00 <sup>a-q</sup>	1,03 <sup>a-c</sup>	5,42 <sup>a-k</sup>	100,00 <sup>d</sup>	6,67 <sup>a-e</sup>
Sailor	13,00 <sup>b-w</sup>	100,00 <sup>xy</sup>	9,23 <sup>a-e</sup>	20,00 <sup>r-y</sup>	98,00 <sup>cd</sup>	10,74 <sup>a-e</sup>
Sakwa	18,33 <sup>m-y</sup>	67,50 <sup>t-y</sup>	25,75 <sup>d-m</sup>	18,33 <sup>m-y</sup>	98,33 <sup>cd</sup>	43,33 <sup>e-o</sup>
Samurai	21,56 <sup>t-y</sup>	69,67 <sup>t-y</sup>	42,00 <sup>k-m</sup>	21,56 <sup>t-y</sup>	100,00 <sup>d</sup>	55,90 <sup>i-p</sup>
Satyna	2,50 <sup>a-f</sup>	51,67 <sup>a-o</sup>	1,67 <sup>a-d</sup>	2,50 <sup>a-f</sup>	100,00 <sup>d</sup>	6,67 <sup>a-e</sup>
Scor	16,68 <sup>i-y</sup>	46,29 <sup>a-f</sup>	19,60 <sup>a-k</sup>	16,68 <sup>i-y</sup>	78,33 <sup>ab</sup>	21,50 <sup>a-k</sup>
Skagen	12,50 <sup>b-w</sup>	65,00 <sup>d-x</sup>	18,50 <sup>a-k</sup>	12,50 <sup>b-w</sup>	98,33 <sup>cd</sup>	43,33 <sup>e-o</sup>
Slade	20,42 <sup>r-y</sup>	69,58 <sup>l-y</sup>	47,17 <sup>m</sup>	20,42 <sup>r-y</sup>	98,33 <sup>cd</sup>	71,67 <sup>o-q</sup>
Smuga	15,83 <sup>i-y</sup>	59,58 <sup>c-v</sup>	0,00 <sup>a</sup>	15,83 <sup>i-y</sup>	100,00 <sup>d</sup>	0,00 <sup>a</sup>
Speedway	13,00 <sup>b-w</sup>	97,00 <sup>xy</sup>	8,28 <sup>a-e</sup>	13,00 <sup>ab</sup>	93,00 <sup>cd</sup>	3,48 <sup>a-c</sup>
Sukces	4,58 <sup>a-k</sup>	48,75 <sup>a-k</sup>	5,70 <sup>a-e</sup>	4,58 <sup>a-k</sup>	95,00 <sup>b-d</sup>	15,00 <sup>a-h</sup>
Symfonia	10,00 <sup>a-t</sup>	45,42 <sup>a-d</sup>	2,08 <sup>a-d</sup>	10,00 <sup>a-t</sup>	93,33 <sup>b-d</sup>	6,67 <sup>a-e</sup>
Szmaragd	12,36 <sup>b-w</sup>	52,25 <sup>a-o</sup>	0,00 <sup>a</sup>	12,36 <sup>b-w</sup>	93,33 <sup>b-d</sup>	0,00 <sup>a</sup>
Tacitus	17,54 <sup>l-y</sup>	66,00 <sup>e-y</sup>	10,27 <sup>a-f</sup>	17,54 <sup>l-y</sup>	100,00 <sup>d</sup>	21,50 <sup>a-k</sup>
Tonacja	4,38 <sup>a-k</sup>	85,63 <sup>y</sup>	73,75 <sup>n</sup>	4,38 <sup>a-k</sup>	96,25 <sup>cd</sup>	92,50 <sup>pq</sup>
Toras	0,83 <sup>ab</sup>	52,08 <sup>a-o</sup>	3,00 <sup>a-d</sup>	0,83 <sup>ab</sup>	100,00 <sup>d</sup>	5,00 <sup>a-d</sup>
Torrild	14,38 <sup>g-x</sup>	77,46 <sup>t-y</sup>	47,60 <sup>m</sup>	14,38 <sup>g-x</sup>	100,00 <sup>d</sup>	98,90 <sup>q</sup>



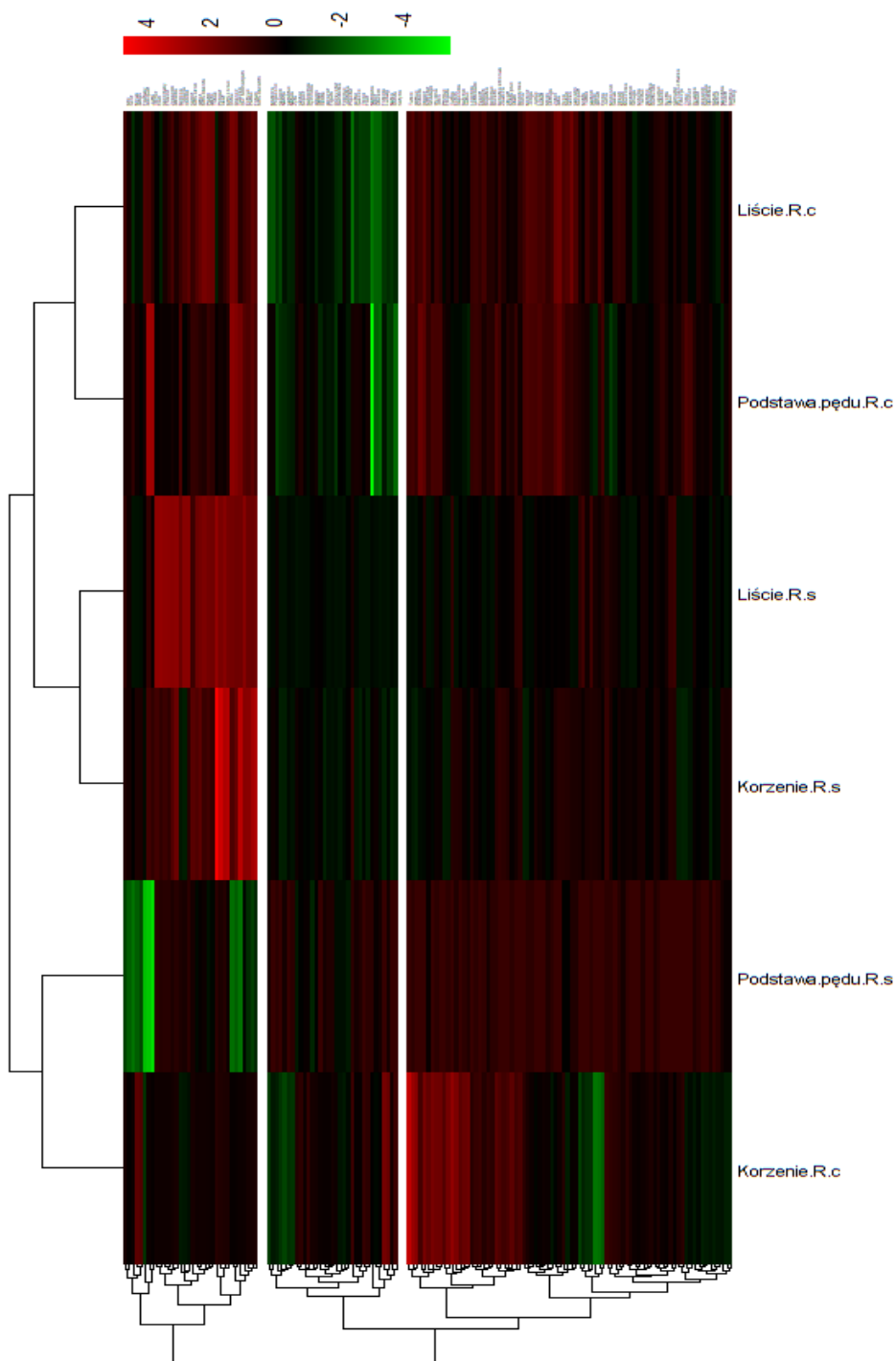
Tabela 5. cd.

1	2	3	4	5	6	7
Trend	1,67 <sup>a-d</sup>	50,42 <sup>a-n</sup>	0,17 <sup>ab</sup>	1,67 <sup>a-d</sup>	96,67 <sup>cd</sup>	1,67 <sup>ab</sup>
Tuareg	18,75 <sup>n-y</sup>	55,83 <sup>a-r</sup>	6,42 <sup>a-e</sup>	18,75 <sup>n-y</sup>	93,33 <sup>b-d</sup>	11,67 <sup>a-f</sup>
Tulecka	11,00 <sup>b-w</sup>	96,00 <sup>xy</sup>	6,90 <sup>a-e</sup>	8,00 <sup>a-p</sup>	95,00 <sup>cd</sup>	6,38 <sup>a-e</sup>
Turkis	7,50 <sup>a-o</sup>	56,67 <sup>a-s</sup>	2,83 <sup>a-d</sup>	7,50 <sup>a-o</sup>	100,00 <sup>d</sup>	10,00 <sup>a-e</sup>
Turmia	3,33 <sup>a-h</sup>	53,75 <sup>a-p</sup>	1,00 <sup>a-c</sup>	3,33 <sup>a-h</sup>	98,33 <sup>cd</sup>	6,67 <sup>a-e</sup>
Wybred	12,00 <sup>b-w</sup>	99,00 <sup>xy</sup>	8,23 <sup>a-e</sup>	28,00 <sup>x-y</sup>	93,00 <sup>cd</sup>	13,65 <sup>a-g</sup>
Wydma	8,75 <sup>a-r</sup>	66,67 <sup>s-y</sup>	2,00 <sup>a-d</sup>	8,75 <sup>a-r</sup>	100,00 <sup>d</sup>	5,00 <sup>a-d</sup>
Wysokolitewka	20,42 <sup>r-y</sup>	81,67 <sup>xy</sup>	44,67 <sup>lm</sup>	20,42 <sup>r-y</sup>	100,00 <sup>d</sup>	60,00 <sup>l-p</sup>
Zawisza	25,00 <sup>xy</sup>	69,58 <sup>l-y</sup>	14,78 <sup>a-j</sup>	25,00 <sup>x-y</sup>	100,00 <sup>d</sup>	40,00 <sup>c-o</sup>
Zobel	12,50 <sup>b-w</sup>	63,33 <sup>d-x</sup>	13,92 <sup>a-i</sup>	12,50 <sup>b-w</sup>	98,33 <sup>cd</sup>	36,67 <sup>a-o</sup>
Zyta	5,42 <sup>a-k</sup>	60,00 <sup>c-v</sup>	4,58 <sup>a-e</sup>	5,42 <sup>a-k</sup>	98,33 <sup>cd</sup>	15,00 <sup>a-h</sup>

<sup>1</sup> Wartości oznaczone tymi samymi literami w kolumnach, nie różnią się istotnie przy poziomie istotności  $\alpha=0,05$







Rys. 5. Mapa gorąca stopnia porażenia (standaryzowany indeks chorobowy) poszczególnych części roślin w teście bibułowym

Przeprowadzona wielowymiarowa analiza grupowania odmian pszenicy hierarchiczną metodą K-średnich wykazała optymalną liczbę grup na 3, przy wykorzystaniu algorytmu „Gap statistic”. Dlatego też wszystkie badane odmiany pszenicy w teście bibułowym przyporządkowano wedle trzech różniących się grup. Grupowanie wykonano zarówno w ujęciu dwuwymiarowym jak i drzewa filogenetycznego (rys. 3, rys. 4). Procedura grupowania skutkowałą otrzymaniem trzech klastrow (grup) o licznosci kolejno: klaster 1 - 53, klaster 2 - 29 oraz klaster 3 - 67. W ramach klastru nr 1 zaobserwowano odmiany pszenicy o niskiej podatnosci na oba patogeny z rodzaju *Rhizoctonia*. W grupie nr 2 znalazly sie odmiany roslin podatnych na badane patogeny. Trzeci klaster stanowia rosliny o umiarkowanej podatnosci na wybrane patogeny. Jednoczesnie klaster ten stanowi najliczniejsza grupe pod wzgledem liczby zrzeszanych odmian.

Hierarchiczna metoda klasyfikacji odmian roslin w ukkladzie dwuwymiarowym wykazala wariacje pierwszego wymiaru na poziomie 40,7% oraz 20,2% dla drugiego wymiaru. Zaobserwowano, ze w ukkladzie dwuwymiarowym grupa nr 1 jest w zdecydowanej wieceksosci spolaryzowana dodatnio zarowno dla pierwszego jak i drugiego wymiaru. Grupa odmian o umiarkowanej podatnosci na patogeny wykazuje scentralizowany charakter, natomiast grupa roslin o charakterze podatnym na oba patogeny wykazuje ujemna polaryzacje wzgledem wymiaru nr 1 oraz dodatnia dla wymiaru nr 2.

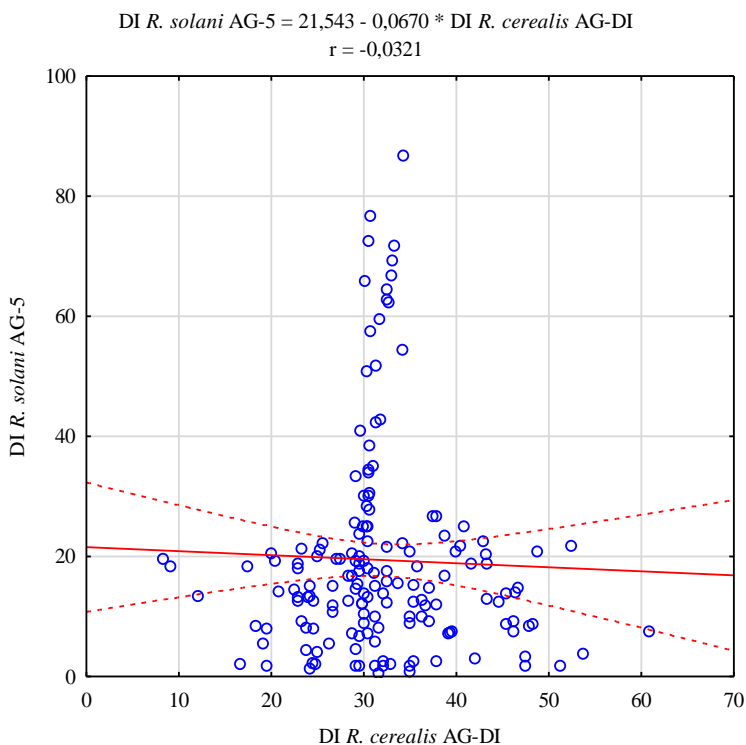
Odmianami o najmniejszej podatnosci na *Rhizoctonia*, nalezace do klastru 1 byly takie odmiany jak: Adagio, Adler, Akratos, Akteur, Alcazar, Almari, Altigo, Asrtal, Bamberka, Banderola, Barroko, Batuta, Brilant, Crackin, Dorota, Drifter, Fidelius, Figura, Flair, Flairway, Florett, Forkida, Garantus, Henrik, Jantarka, Kampana, Kobra, Kohelia, Ludwig, Magnatka, Markiza, Mewa, Nadobna, Naridana, Nateja, Natula, Nutka, Operetka, Pegassos, Popstar, Rochvord, Rockystar, Sakwa, Satyna, Scor, Skagen, Slade, Sukces, Symfonia, Tacitus, Torrild, Trend, Zyta. Natomiast grupe 2, zrzeszajaca odmiany o najwiekszej podatnosci na badane patogeny stanowily takie odmiany jak: Adequat, Arkadia, Arktis, Artist, Belissa, Elan, Estivus, Folklor, Forum, Hondia, Jutta, Kris, KWS Dacanto, KWS Dakota, KWS Livius, KWS Ozon, Oxal, Patras, Pengar, Platin, RGT Kilimanjaro, Rokosz, Rotax, Sailor, Speedway, Tobak, Treffer, Tulecka, Zeppelin.

W sklad klastru 3 wchodzi genotypy o umiarkowanej podatnosci na badane patogeny i naleza tutaj takie odmiany pszenicy jak Alba, Ambition, Anthus, Askalon, Baryton, Bellenus, Benatka kresowa, Blondynka, Bockris, Bogatka, Boomer, Bystra, Centenaire, Cubus, Dekan, Digger, Elena, Estero, Expert, Finezja, Fregata, Galvano, Gecko, Global, Illico, Jenga, Julius, Juma, Kaspert, Katart, Kepler, Kobiera, Kobra plus, Kolystar, Kranich, Kredo, Kuban, Legenda, Loyal, Lukullus, Meteor, Monsoon, Mulan, Muszelka, Olivart, Olwin,

Opus, Ostroga, Profilus, Quibon, Rapsodia, Roma, Rubens, Rysa, Rywalka, Samurai, Smaragd, Smuga, Tonacja, Toras, Tuereg, Turkis, Turnia, Wydma, Wysokolitewka, Zawisza, Zobel.

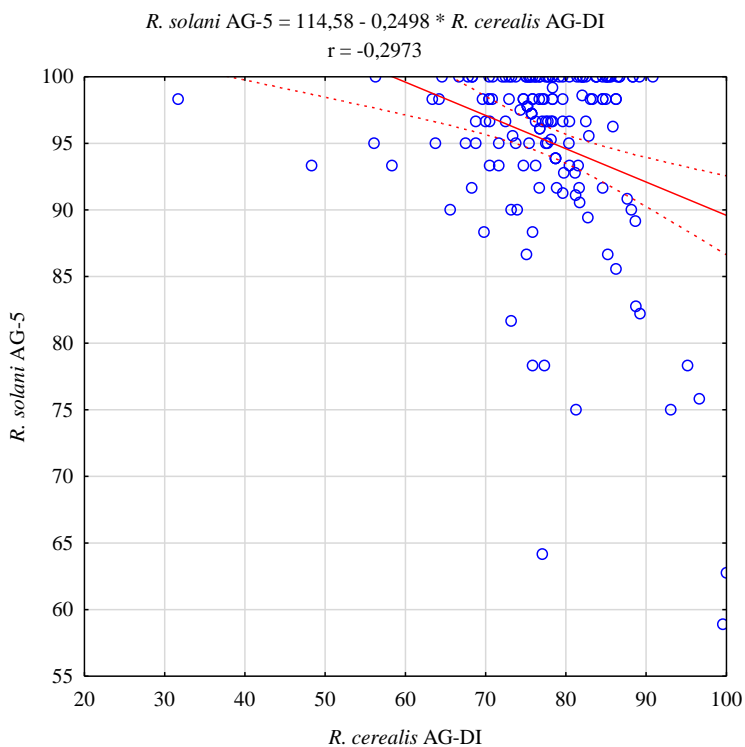
Dodatkowo wykonano mapę gorąca występowania objawów chorobowych na roślinach w testach bibułowych (rys. 5). Wyskalowane dane poddano analizie skupień z wykorzystaniem odległości euklidesowej oraz grupowaniu metodą Warda. Umożliwiło to wyodrębnienie i zobrazowanie trzech grup odmian roślin różniących się podatnością na badane patogeny, wyrażanych w postaci indeksu chorobowego dla korzeni, podstawy pędu oraz liści. Podobnie jak w przypadku hierarchizacji metodą K-średnich wyodrębniono trzy różne grupy odmian o zróżnicowanej podatności na badane patogeny. Utworzona mapa umożliwiła zobrazowanie rozkładu cechy podatności na poszczególnych częściach roślin.

Należy ponadto nadmienić, że uzyskane wyniki hierarchizacji cech podatności odmian pozwoliły na zaobserwowanie pewnych zbieżności co do przynależności do poszczególnych klastrów roślin pochodzących z doświadczeń polowych oraz laboratoryjnych. W przypadku roślin podatnych na działanie obu patogenów zaobserwowano, że jedynie rośliny odmiany Kris, pochodzące z doświadczeń polowych jak i laboratoryjnych, znajdowały się w grupach o podobnej podatności, a tym samym lokalizacji względem wymiaru pierwszego. W przypadku grupy roślin o umiarkowanej podatności zaobserwowano zbieżność dla takich odmian jak: Alba, Ambition, Anthus, Benatka Kresowa, Blondynka, Bockris, Bogatka, Digger, Galvano, Gecko, Kepler, Kuban, Loyal, Lukullus, Meteor, Olivart, Opus, Quibon, Rapsodia, Rubens, Rywalka, Smuga, Toras, Tuereg, Turkis, Turnia, Zawisza. w przypadku trzeciej grupy roślin o najmniejszej podatności na badane patogeny zaobserwowano, że takie odmiany jak: Akratos, Akteur, Almari, Altigo, Bamberka, Banderola, Crackin, Dorota, Drifter, Fidelius, Figura, Flairway, Forkida, Garantus, Kampana, Kohelia, Naridana, Natula, Nutka, Pegassos, Popstar, Rockystar, Sakwa, Slade wykazywały podobną lokalizację zarówno w doświadczeniach bibułowych jak i polowych, tj. oba klastry były dodatnie dla pierwszego wymiaru.



Rys. 6. Zależność pomiędzy nasileniem występowania objawów na korzeniach roślin spowodowanych przez *R. solani* AG-5 i *R. cerealis* AG-DI w teście bibułowym

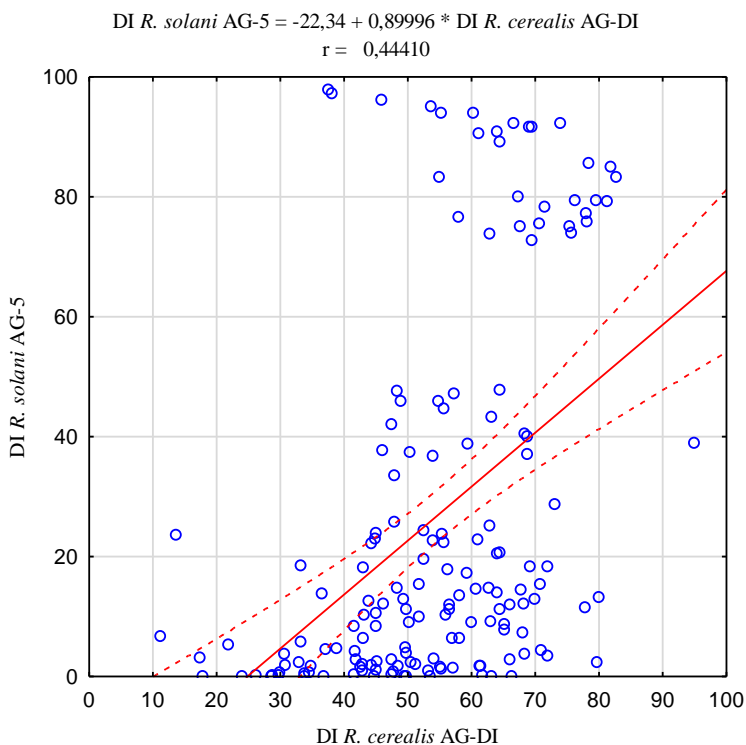
Zbadano również stopień zależności pomiędzy występowaniem objawów chorobowych powodowanych przez *R. cerealis* AG-DI a *R. solani* AG-5. w przypadku porażenia korzeni stwierdzono ujemną wartość korelacji Pearsona, aczkolwiek niska wartość współczynnika ( $r = -0,0321$ ) wskazuje na brak jakiegokolwiek korelacji pomiędzy występowaniem objawów na korzeniach powodowanymi przez różne patogeny (rys. 6).



Rys. 7. Zależność pomiędzy nasileniem występowania objawów na podstawie pędu spowodowanych przez *R. solani* AG-5 i *R. cerealis* AG-DI w teście bibułowym

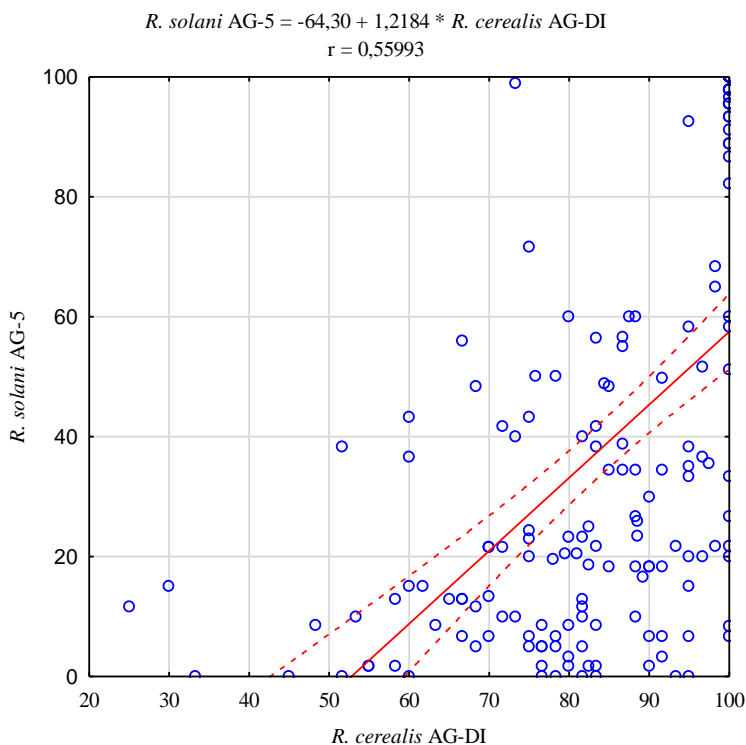
W przypadku występowania objawów na podstawie pędu roślin (rys. 7) stwierdzono słabą ujemną korelację ( $r = -0,2973$ ). Stwierdzono, iż wzrost porażenia powodowanego przez *R. solani* AG-5 korespondował ze słabszym porażeniem przez *R. cerealis* AG-DI.





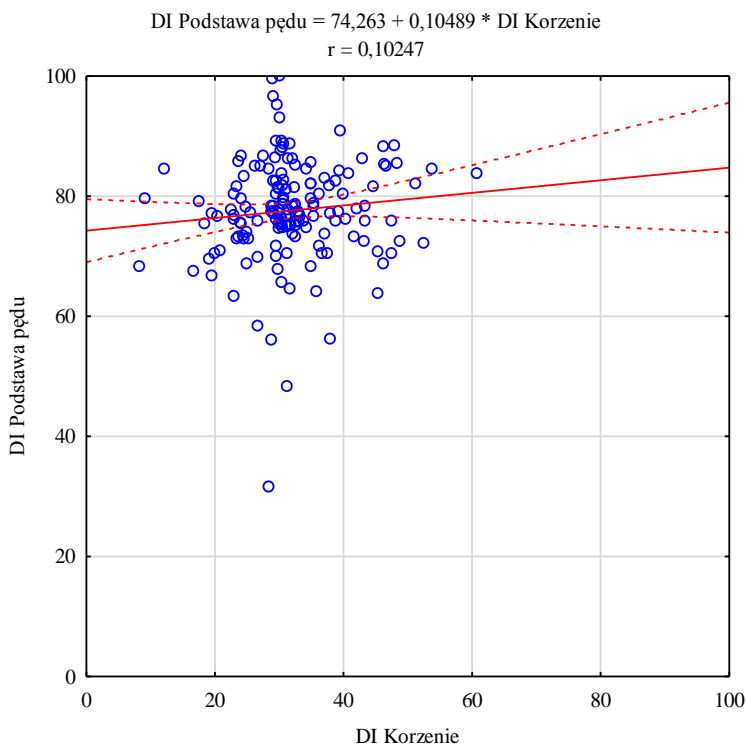
Rys. 8. Zależność pomiędzy nasileniem występowania objawów na liściach spowodowanych przez *R. solani* AG-5 i *R. cerealis* AG-DI w teście bibułowym

W przypadku występowania objawów na liściach (rys. 8) stwierdzono umiarkowaną dodatnią korelację pomiędzy występowaniem objawów powodowanych przez *R. cerealis* AG-DI i *R. solani* AG-5 ( $r = 0,4441$ ). Tym samym wzrost porażenia liści przez *R. solani* AG-5 korespondował ze wzrostem porażenia liści przez *R. cerealis* AG-DI. Może to sugerować, iż oba patogeny rozwijają się w tkankach liści w podobny sposób.



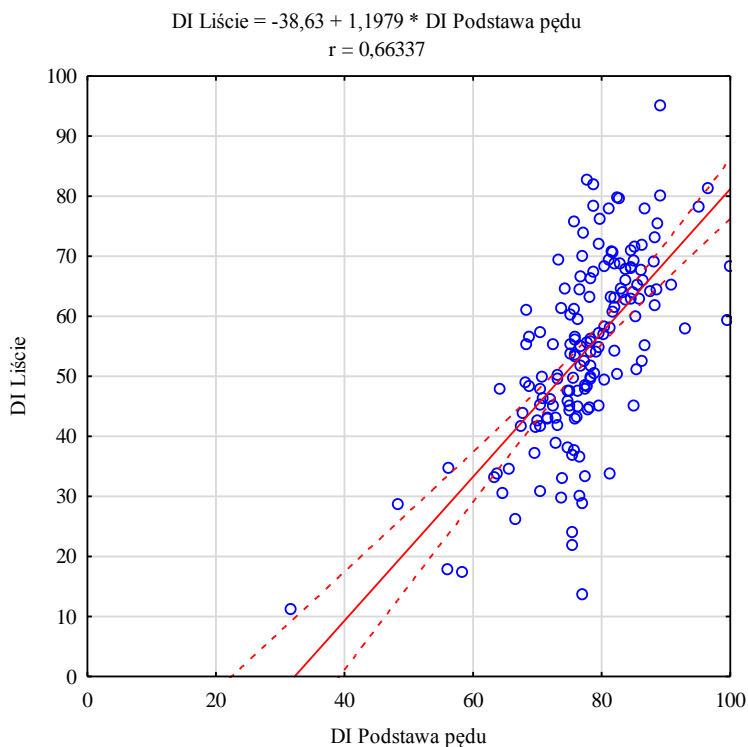
Rys. 9. Zależność pomiędzy licznością obserwowanych objawów chorobowych na liściach powodowanych przez *R. solani* AG-5 i *R. cerealis* AG-DI w teście bibułowym

Nie stwierdzono istotnych korelacji pomiędzy licznością występowania objawów chorobowych (jako liczności porażonych roślin) na korzeniach a podstawą pędu. Stwierdzono natomiast istotną dodatnią, umiarkowanie silną korelację ( $r = 0,55993$ ) pomiędzy licznością objawów chorobowych powodowanych przez *R. solani* a powodowanych przez *R. cerealis* obserwowanych na liściach (rys. 9).



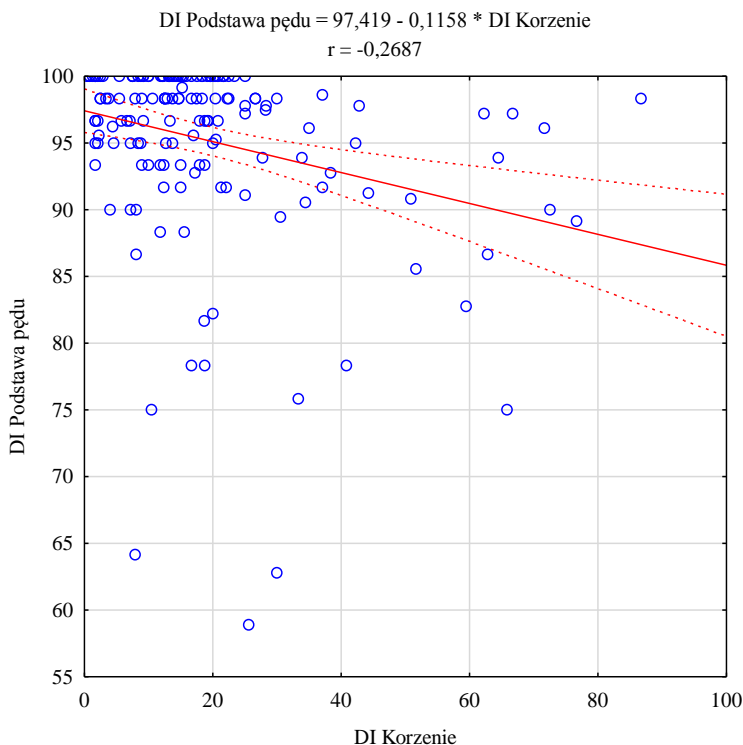
Rys. 10. Zależność pomiędzy nasileniem występowania objawów na korzeniach i podstawie pędu spowodowanych przez *R. cerealis* AG-DI w teście bibułowym

W przypadku porażenia siewek przez *R. cerealis* AG-DI nie stwierdzono silnej zależności ( $r = 0,10247$ ) pomiędzy występowaniem objawów na korzeniach i podstawie pędu (rys. 10). Tym samym można stwierdzić, iż nasilenie porażenia korzeni roślin przez *R. cerealis* nie było równoznaczne z nasileniem porażenia podstawy pędu.



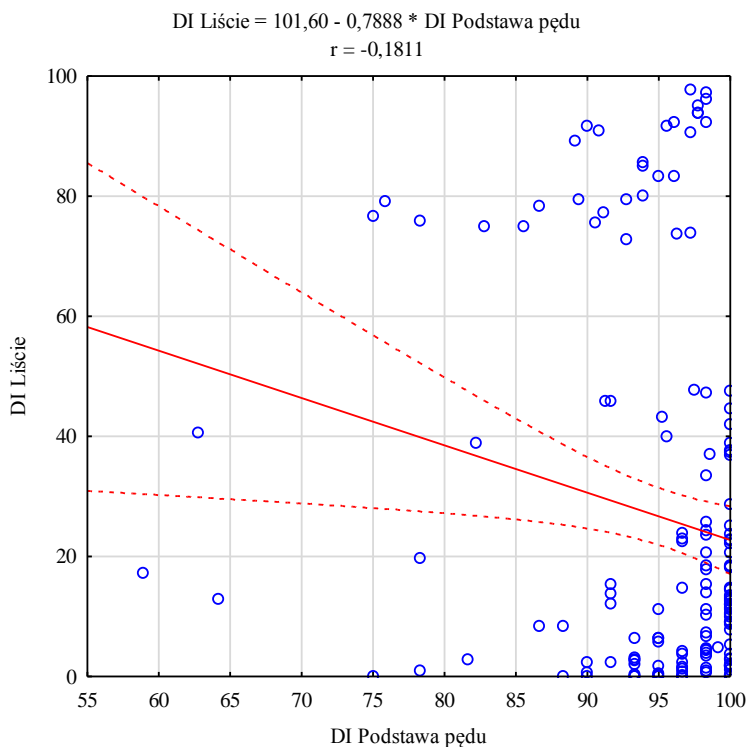
Rys. 11. Zależność pomiędzy nasileniem występowania objawów na podstawie pędu i na liściach spowodowanych przez *R. cerealis* AG-DI w teście bibułowym

Stwierdzono silną zależność ( $r = 0,66337$ ) pomiędzy nasileniem objawów porażenia podstawy pędu a porażeniem liści spowodowanych przez *R. cerealis* AG-DI (rys. 11). Wzrostowi wartości porażenia podstawy pędu towarzyszył wzrost nasilenia objawów obserwowanych na liściach.



Rys. 12. Zależność pomiędzy nasileniem występowania objawów na korzeniach i podstawie pędu spowodowanych przez *R. solani* AG-5 w teście bibułowym

W przypadku porażenia siewek pszenicy przez *R. solani* AG-5 nie stwierdzono dodatniej zależności pomiędzy występowaniem objawów na korzeniach a podstawą pędu (rys. 12). Analiza korelacji *r*-Pearsona wykazała słabą ujemną korelację pomiędzy wymienionymi parametrami ( $r = -0,2687$ ). Tym samym wzrostowi wartości porażenia podstawy pędu towarzyszył jedynie nieznaczny spadek porażenia korzeni roślin. Podobną zależność stwierdzono dla porażenia podstawy pędu i liści przez *R. solani* AG-5 (rys. 13). Korelacja pomiędzy tymi parametrami była słaba i ujemna ( $r = -0,1811$ ). Wzrostowi porażenia podstawy pędu towarzyszył nieznaczny spadek nasilenia objawów chorobowych na liściach.



Rys. 13. Zależność pomiędzy nasileniem występowania objawów na podstawie pędu i liściach spowodowanych przez *R. solani* AG-5 w teście bibułowym

### 5.3. Badania relacji roślina-patogen

#### 5.3.1. Wpływ grzybów z rodzaju *Rhizoctonia* na zdrowotność roślin

Analizując procent roślin pięciu genotypów/gatunków pszenic (*Triticum*) porażonych przez różne grupy anastomozowe grzybów z rodzaju *Rhizoctonia* wykazano istotność wpływu wariantu inokulacji (kombinacji), gatunku *Triticum* oraz interakcji między czynnikami (tabela 6). Żaden z wariantów kontrolnych nie wykazywał jakichkolwiek zmian chorobowych, co wskazuje na brak występowania czynników zakłócających w postaci innych patogenów. W toku przeprowadzonych analiz wykazano, że najmniej objawów chorobowych powodowanych przez *R. solani* AG-5 było na roślinach pszenicy zwyczajnej (*T. aestivum*), które obserwowano na 68% roślin stanowiących istotną statystycznie i odrębną grupę jednorodną. u pozostałych badanych genotypów pszenicy procentowy udział roślin z objawami porażenia znajdował się na zbliżonym poziomie, około 90%. Średni procent roślin wykazujących objawy chorobowe w tym wariantcie wynosił 85,5%. W przypadku *R. cerealis* AG-DI najliczniej porażone były rośliny pszenicy perskiej (*T. persicum*) - 82,8%

porażonych roślin oraz pszenicy orkisz (*T. spelta*) - 76,2% roślin (rys. 14). Z kolei najmniej liczne (8,8%) pod względem występowania objawów chorobowych okazały się rośliny pszenicy twardej (*T. durum*), istotnie różniąc się od pozostałych gatunków pszenic. W przypadku inokulacji roślin grzybem *Rhizoctonia* należącym do grupy anastomozowej AG-B0 nie zaobserwowano jakichkolwiek zmian chorobowych u żadnego z badanych genotypów roślin. Tym samym można stwierdzić, iż grzyby tej grupy nie są patogenami pszenicy. z kolei w przypadku inokulacji roślin izolatem *R. solani* należącym do grupy AG-1IC stwierdzono bardzo silne występowanie objawów chorobowych (fot. 2, fot. 3, fot. 4). Jednocześnie w tym wariacie inokulacyjnym, żaden z badanych genotypów pszenic nie różnił się istotnie między sobą. Udział roślin z objawami chorobowymi oscylował między 80 a 90%, przy średniej licznosci 86% (tabela 6). W przypadku pszenicy zwyczajnej oraz pszenicy perskiej, nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy wariantami inokulowania (*R. cerealis* AG-DI, *R. solani* AG-5 i *R. solani* AG-1IC). Stanowiły one jednorodną grupę, różniącą się od wariantu kontrolnego oraz, co ważne, od wariantu inokulowanego izolatem *Rhizoctonia* AG-B0, który określony został jako niepatogeniczny. W przypadku pszenicy orkisz, pszenicy twardej oraz pszenicy okrągłozianrowej stwierdzono, że wariant z inokulacją *R. solani* AG-1IC różnił się istotnie od wariantu z inokulacją *R. cerealis* AG-DI dla wszystkich trzech ww pszenic. Warto zaznaczyć, iż pszenica twarda charakteryzująca się najniższą zaobserwowaną podatnością na *R. cerealis* AG-DI (na podstawie licznosci porażonych roślin) jednocześnie okazała się wysoce podatna na porażenie przez *R. solani* AG-5. Podobną zależność, ale o mniejszym nasileniu można zaobserwować u pszenicy zwyczajnej oraz pszenicy okrągłozianrowej. Jedynie pszenica orkisz i pszenica perska charakteryzowały się podobną podatnością na oba patogeny.

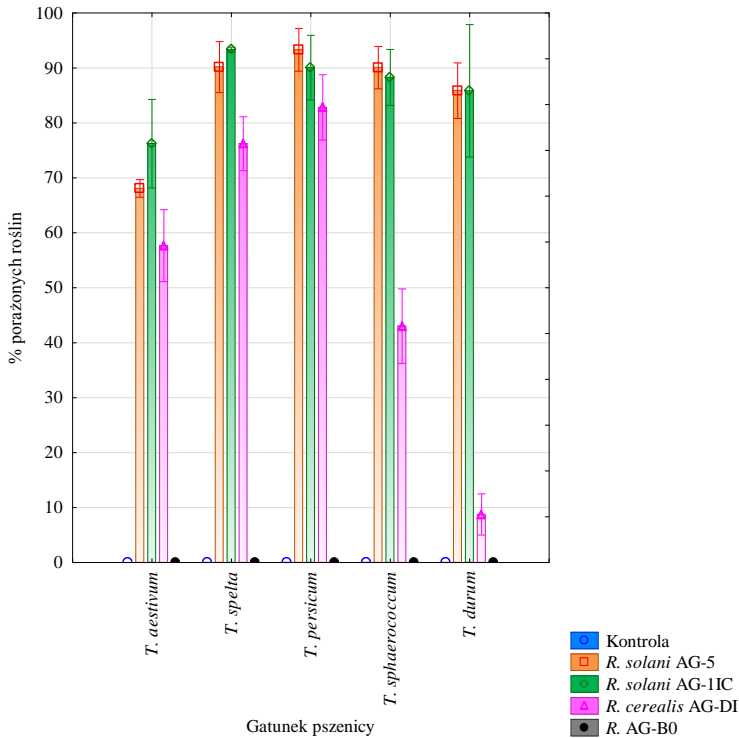
Tabela 6. Procent roślin wybranych gatunków pszenicy z objawami porażenia przez różne genotypy *Rhizoctonia*

Genotyp <i>Rhizoctonia</i>	Gatunek pszenicy					Średnia
	<i>T. aestivum</i>	<i>T. spelta</i>	<i>T. persicum</i>	<i>T. sphaerococcum</i>	<i>T. durum</i>	
Kontrola	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a
<i>R. solani</i> AG-5	68,1 b A	90,2 c B	93,3 b B	90,1 c B	85,9 b B	85,5 c
<i>R. solani</i> AG-IIC	76,2 b A	93,4 c A	90,1 b A	88,3 c A	85,8 b A	86,8 c
<i>R. cerealis</i> AG-DI	57,7 b B	76,2 b BC	82,8 b C	43,0 b AB	8,8 a A	53,7 b
<i>Rhizoctonia</i> sp. AG-B0	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a
Średnia	40,4 AB	51,9 BC	53,2 C	44,3 B	36,1 A	45,2
Istotność efektu: genotyp <i>Rhizoctonia</i> (R) - *** <sup>2</sup> ; gatunek pszenicy (G) - ***; interakcja R×G - ***						

<sup>1</sup> Wartości oznaczone tymi samymi literami, małymi w kolumnach i wielkimi w wierszach, nie różnią się istotnie przy poziomie istotności  $\alpha=0,05$

<sup>2</sup> Poziom istotności efektu \*\*\* 0,001; \*\* 0,01; \* 0,05





Rys. 14. Procent roślin wybranych gatunków pszenicy z objawami porażenia przez różne genotypy *Rhizoctonia*

Analiza dla wartości indeksu chorobowego wykazała istotność wpływu wariantu inokulacyjnego, gatunku pszenicy oraz interakcji między czynnikami (tabela 7, rys. 15). Warianty kontrolne nie wykazywały jakichkolwiek objawów chorobowych. W przypadku inokulacji *R. solani* AG-5 najmniej objawów stwierdzono na pszenicy zwyczajnej, istotnie więcej było ich na pozostałych gatunkach pszenic. Średnie porażenie pszenic przez *R. solani* AG-5 dla wszystkich gatunków wynosiło 59,8%. W przypadku ekspozycji roślin na *R. cerealis* AG-DI stwierdzono, iż porażenie pszenicy twardej (DI=2,2%) istotnie różniło się od pozostałych badanych gatunków pszenic. Następne w kolejności znajdowała się pszenica okrągłoziernowa (DI=22,5%), pszenica zwyczajna (27,9%), pszenica orkisz (45,5%) oraz pszenica perska (54,6%). Nie odnotowano jedynie istotnych różnic między nasileniem porażenia pszenicy zwyczajnej a porażeniem pszenicy okrągłoziernowej. W wariacie, w którym inokulowano izolatem *Rhizoctonia* AG-B0 nie zaobserwowano jakichkolwiek objawów chorobowych na roślinach. Z kolei inokulacja roślin *R. solani* AG-11C (fot. 2, fot. 3) skutkowałą silnym porażeniem roślin, porównywalnym z *R. solani* AG-5 (fot. 5, fot. 6). Najslabszym odnotowanym porażeniem

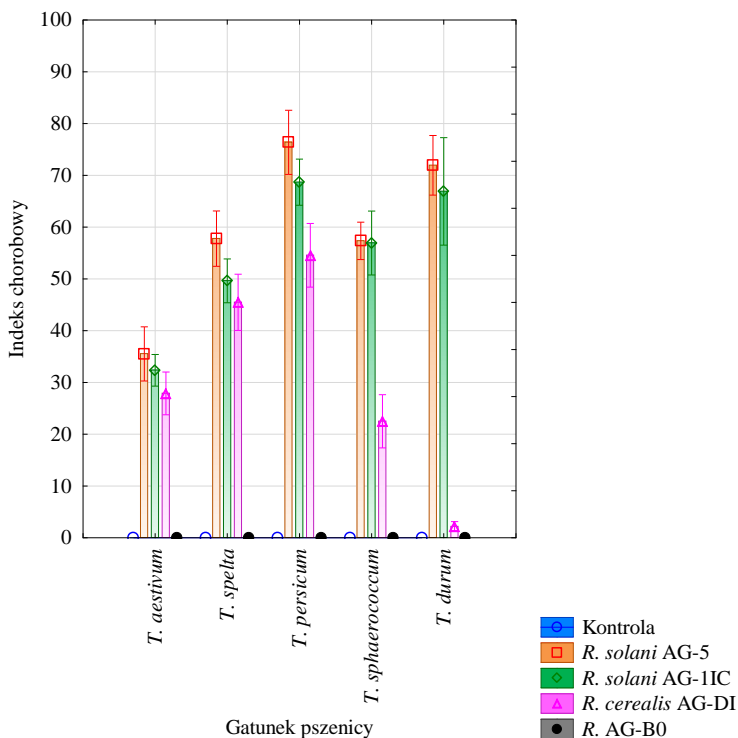
charakteryzowały się rośliny pszenicy zwyczajnej (DI=32,4%), które istotnie różniło się od porażenia pozostałych gatunków. Ponadto wrażliwość roślin pszenicy orkisz (DI=49,6%) różniła się istotnie od wrażliwości roślin pszenicy perskiej (DI=68,7%) oraz pszenicy twardej (DI=66,9%). Podobnie jak w przypadku liczności porażonych roślin warianty kontrolne oraz *Rhizoctonia* AG-B0 charakteryzowały się brakiem objawów chorobowych, a tym samym stanowiły jednorodną grupę istotnie różniącą się od wariantów patogenicznych.

Tabela 7. Nasilenie objawów chorobowych na wybranych gatunkach pszenic powodowanych przez różne genotypy *Rhizoctonia* [DI w %] - doświadczenie wazonowe

Genotyp <i>Rhizoctonia</i>	Gatunek pszenicy					Średnia
	<i>T. aestivum</i>	<i>T. spelta</i>	<i>T. persicum</i>	<i>T. sphaerococcum</i>	<i>T. durum</i>	
Kontrola	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a
<i>R. solani</i> AG-5	35,5 b A	57,8 b AB	76,4 c B	57,3 c AB	71,9 b B	59,8 c
<i>R. solani</i> AG-11C	32,4 b A	49,6 b AB	68,7 b B	56,9 c AB	66,9 b B	54,9 c
<i>R. cerealis</i> AG-DI	27,9 b B	45,5 b C	54,6 b D	22,5 b AB	2,2 a A	30,5 b
<i>Rhizoctonia</i> sp. AG-B0	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a
Średnia	19,2 A	30,6 B	39,9 C	27,4 A	28,2 A	29,0
Istotność efektu: genotyp <i>Rhizoctonia</i> (R) - *** <sup>2</sup> ; gatunek pszenicy (G) - ***; interakcja R×G - ***						

<sup>1</sup> Wartości oznaczone tymi samymi literami, małymi w kolumnach i wielkimi w wierszach, nie różnią się istotnie przy poziomie istotności  $\alpha=0,05$

<sup>2</sup> Poziom istotności efektu \*\*\* 0,001; \*\* 0,01; \* 0,05



Rys. 15. Indeks nasilenia objawów chorobowych na wybranych gatunkach pszenic powodowanych przez różne genotypy *Rhizoctonia* [DI w %] - doświadczenie wazonowe

Analiza średniego stopnia porażenia badanych genotypów wykazała istotność wpływu wariantu inokulacyjnego, gatunku pszenicy oraz interakcji między czynnikami (tabela 8, rys. 16). Podobnie jak w przypadku poprzednich analizowanych cech, warianty kontrolne jak i inokulowane *Rhizoctonia* AG-B0 nie wykazywały jakichkolwiek objawów chorobowych. W przypadku inokulacji *R. solani* AG-5 najmniejszą podatnością charakteryzowała się pszenica zwyczajna, istotnie różniąc się od pozostałych gatunków roślin. Najbardziej podatna była pszenica perska (3,1) oraz pszenica twarda (2,9). Z kolei ekspozycja roślin na *R. cerealis* skutkowało wysokim zróżnicowaniem w porażeniu między gatunkami pszenic. Najmniej podatna okazała się pszenica twarda, która istotnie różniła się od pozostałych badanych gatunków, wykazując średni stopień na poziomie 0,09. Następna w kolejności pod względem tej cechy była pszenica okrągłoziałkowa (0,9). Najwyższą podatność na *R. cerealis* AG-DI wykazała pszenica perska, ze średnim stopniem porażenia na poziomie 2,2. Inokulacja roślin *Rhizoctonia* AG-B0 nie skutkowało wystąpieniem jakichkolwiek zmian na podstawie pędu. Z kolei inokulacja *R. solani* AG-1IC

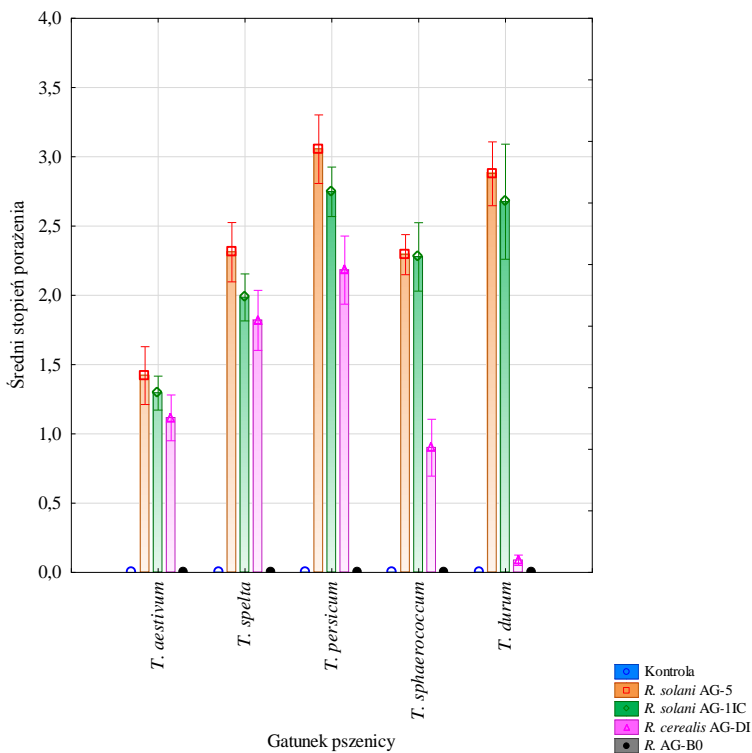
charakteryzowała się występowaniem silnych objawów chorobowych u wszystkich gatunków pszenic, porównywalnym do roślin porażonych przez *R. solani* AG-5. Tym samym najmniej podatnym gatunkiem była pszenica zwyczajna, istotnie różniąca się od pozostałych badanych gatunków. w przypadku pszenicy zwyczajnej warianty inokulowane grzybami patogenicznymi nie różniły się istotnie od siebie, stanowiąc jednorodną grupę. Istotne różnice zaobserwowano jedynie między wariantami inokulowanymi i kontrolnymi oraz wariantem traktowanym *Rhizoctonia* AG-B0. Podobny rozkład tej cechy wykazywały rośliny pszenicy orkisz. W przypadku pszenicy perskiej zaobserwowano istotne różnice pomiędzy porażeniem przez *R. solani* AG-5 (3,1) oraz *R. cerealis* AG-DI (2,2). Pszenica okrągłoziarnowa wykazywała podobieństwo do pszenicy perskiej w kontekście rozkładu porażenia roślin pomiędzy wariantami *R. solani* AG-5 i *R. cerealis* AG-DI. Oba warianty inokulacyjne różniły się istotnie między sobą stanowiąc odrębne grupy jednorodne. Dla roślin pszenicy twardej rozkład średniego stopnia porażenia wykazywał bardzo niskie porażenia przez *R. cerealis*, gdyż rośliny te charakteryzowały się średnim porażeniem na poziomie 0,1 stopnia i stanowiły jednorodną grupę z roślinami kontrolnymi oraz wariantem *Rhizoctonia* AG-B0.

Tabela 8. Średni stopień porażenia roślin wybranych gatunków pszenicy przez różne genotypy *Rhizoctonia* - doświadczenie wazonowe

Genotyp <i>Rhizoctonia</i>	Gatunek pszenicy					Średnia
	<i>T. aestivum</i>	<i>T. spelta</i>	<i>T. persicum</i>	<i>T. sphaerococcum</i>	<i>T. durum</i>	
Kontrola	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a
<i>R. solani</i> AG-5	1,4 b A	2,3 b AB	3,1 c B	2,3 c AB	2,9 b B	2,4 c
<i>R. solani</i> AG-11C	1,3 b A	1,9 b AB	2,8 bc B	2,3 c AB	2,7 b B	2,2 c
<i>R. cerealis</i> AG-DI	1,1 b B	1,8 b BC	2,2 b C	0,9 b AB	0,1 a A	1,2 b
<i>Rhizoctonia</i> sp. AG-B0	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a A	0,0 a
Średnia	0,8 A	1,2 B	1,6 C	1,1 B	1,1 B	1,2
Istotność efektu: genotyp <i>Rhizoctonia</i> (R) - *** <sup>2</sup> ; gatunek pszenicy (G) - ***; interakcja R×G - ***						

<sup>1</sup> Wartości oznaczone tymi samymi literami, małymi w kolumnach i wielkimi w wierszach, nie różnią się istotnie przy poziomie istotności  $\alpha=0,05$

<sup>2</sup> Poziom istotności efektu \*\*\* 0,001; \*\* 0,01; \* 0,05



Rys. 16. Średni stopień porażenia roślin wybranych gatunków pszenicy przez różne genotypy *Rhizoctonia* - doświadczenie wazonowe

### 5.3.2. Wpływ grzybów z rodzaju *Rhizoctonia* na świeżą biomasa roślin

Analiza średniej biomasy roślin (w przeliczeniu na pojedynczą roślinę) wykazała istotność wpływu wariantu inokulacyjnego oraz gatunku pszenicy, aczkolwiek nie odnotowano istotnej interakcji między czynnikami (tabela 9, rys. 17). Rośliny wariantów kontrolnych charakteryzowały się zróżnicowaną biomasa roślin. Największą biomasa charakteryzowała się pszenica zwyczajna, której rośliny osiągały średnią masę 0,70 g i istotnie różniły się od pszenicy orkisz (0,58 g), pszenicy okrągłozłazkowej (0,52 g) i pszenicy twardej (0,49 g). Gatunkiem o najmniejszej biomasy była pszenica perska (0,29 g). Gatunkami o najwyższej odnotowanej biomasy roślin poddanych stresowi biotycznemu powodowanemu przez *R. solani* AG-5 okazały się pszenica orkisz (0,54 g) oraz pszenica zwyczajna (0,49 g). Drugą grupę jednorodną stanowiły rośliny pszenicy okrągłozłazkowej (0,39 g) oraz pszenicy twardej (0,37 g). Najbardziej podatne na działanie patogena okazały się rośliny pszenicy perskiej, gdzie średnia biomasa pojedynczej rośliny osiągała 0,22 g. Analogicznie wyglądał rozkład tej cechy w kontekście działania *R. cerealis* AG-DI. Największą

biomasę uzyskały rośliny pszenicy zwyczajnej (0,67 g), nie różniąc się istotnie od roślin kontrolnych. Podobnie jak w przypadku wariantu *R. solani* AG-5, następne w kolejności pod względem osiągniętej biomasy były rośliny pszenicy twardej (0,51 g), pszenicy orkisz (0,50 g) oraz pszenicy okrągłozianowej (0,48 g), a gatunkiem o najniższej biomacie była pszenica perska (0,25 g). Inokulacja roślin grzybem *Rhizoctonia* AG-B0 nie działała hamująco na rozwój roślin. Co więcej, ekspozycja roślin na ten izolat działała symulująco na ich rozwój. Jednak dla żadnego z badanych gatunków nie odnotowano spadku biomasy roślin istotnie różnego od wariantów kontrolnych. Co więcej rośliny osiągały zbliżoną lub też nieznacznie większą biomasę od tych w warunkach kontrolnych. Do najbardziej podatnych na stymulujące działanie, tj. charakteryzujących się największą różnicą pomiędzy wariantem *Rhizoctonia* AG-B0 a kontrolą były rośliny pszenicy twardej. Pozostałe gatunki charakteryzowały się mniejszą różnicą.

W przypadku traktowania roślin izolatem *R. solani* AG-11C obserwowano spadki biomasy (tabela 9, rys. 17). Najmniej wrażliwym gatunkiem pszenicy na działanie tego patogena była pszenica zwyczajna, której rośliny osiągały masę 0,59 g. Następnymi gatunkami pod względem spadku biomasy były pszenica orkisz (0,47 g), pszenica twarda (0,37 g), pszenica okrągłozianowa (0,36 g) oraz pszenica perska (0,27 g).

Rośliny pszenicy zwyczajnej osiągały największą średnią biomasę na pojedynczą roślinę (0,63 g). Spośród wszystkich kombinacji największe wartości biomasy osiągały rośliny wariantów kontrolnych oraz inokulowanych izolatem *Rhizoctonia* AG-B0. Co ważne rośliny inokulowane tym grzybem nie wykazywały jakichkolwiek zmian chorobowych, charakteryzowały się zdrową i silną podstawą pędu i odpowiednio rozwiniętymi liśćmi. Dodatek do podłoża izolatu *Rhizoctonia* AG-B0 nie powodował u roślin pszenicy zwyczajnej jakichkolwiek zmian chorobowych czy widocznego zahamowania rozwoju roślin. Jedynie ekspozycja na działanie silnych patogenów jakimi były *R. solani* AG-5 i *R. solani* AG-11C powodowała wyraźny spadek biomasy. Jedynie wariant *R. solani* AG-5 charakteryzował się zauważalnie niższą od kontroli biomasą. W przypadku inokulacji izolatem *R. solani* AG-11C odnotowano nieistotny spadek. W przypadku inokulacji *R. cerealis* AG-DI również odnotowywano niewielki, nieistotny spadek biomasy roślin.

Pszenica orkisz stanowiła drugi pod względem wartości biomasy gatunek, osiągający średnio 0,54 g świeżej masy pojedynczej rośliny. Najlepiej rozwinięte były rośliny w kombinacji kontrolnej oraz inokulowane izolatem *Rhizoctonia* AG-B0. Co ważne inokulacja roślin *R. solani* AG-5 nie powodowała istotnego spadku biomasy w odniesieniu do wariantu kontrolnego. z kolei inokulacja roślin *R. cerealis* AG-DI oraz *R. solani* AG-11C skutkowałą porównywalnym, spadkiem osiągalnej biomasy (warianty te stanowiły odrębną

grupę jednorodną). W przypadku inokulacji grzybem *Rhizoctonia* AG-B0 rośliny osiągały nieznacznie większą biomasa, lecz różnica nie była istotna statystycznie.

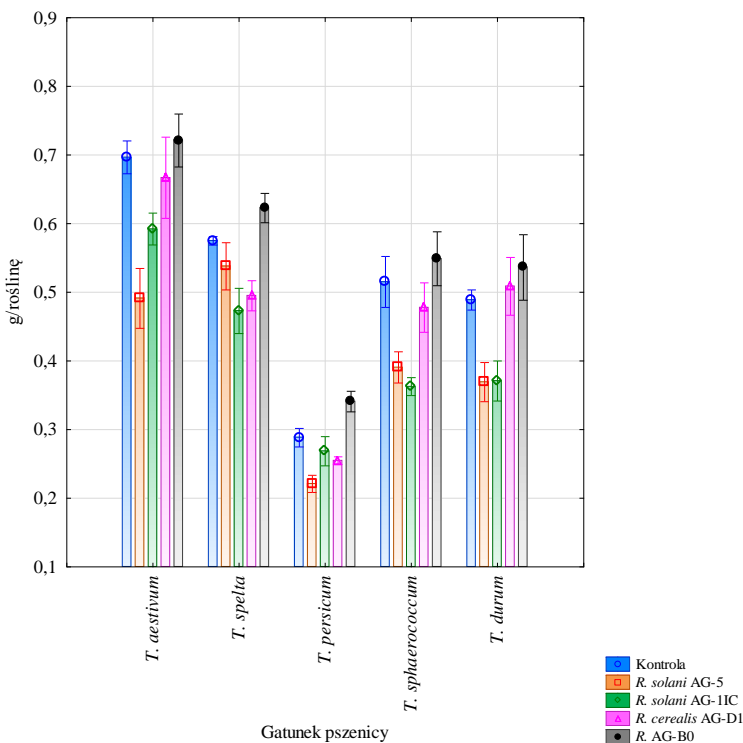
Rośliny pszenicy perskiej wykazały najniższą biomasa we wszystkich wariantach inokulacyjnych. Największe wartości obserwowano w wariantcie kontrolnym (0,29 g) oraz inokulowanym *Rhizoctonia* AG-B0 (0,34 g). Z kolei największe spadki biomasy odnotowano w kombinacji z *R. solani* AG-5 (0,22 g). Podobnie wygląda rozkład cechy dla dwóch kolejnych gatunków. Nie odnotowano istotnych różnic pomiędzy kombinacjami. Pszenica okrągliozarnowa charakteryzowała się największą wartością biomasy dla kombinacji kontrolnej (0,52 g) i z inokulacją *Rhizoctonia* AG-B0 (0,55 g) oraz największymi spadkami tej wartości dla kombinacji z *R. solani* AG-5 (0,39 g) i *R. solani* AG-11C (0,36 g). W przypadku pszenicy twardej wariant kontrolny osiągnął wartość biomasy rzędu 0,49 g, dla wariantu *Rhizoctonia* AG-B0 - 0,54 g, a dla *R. cerealis* AG-DI - 0,51 g i stanowiły grupę jednorodną. Z kolei ekspozycja na *R. solani* AG-5 skutkowała największymi spadkami osiągananej biomasy.

Tabela 9. Świeża biomasa roślin [g·roślina<sup>-1</sup>] wybranych gatunków pszenicy w zależności od genotypu *Rhizoctonia* (doświadczenie wazonowe)

Genotyp <i>Rhizoctonia</i>	Gatunek pszenicy					Średnia
	<i>T. aestivum</i>	<i>T. spelta</i>	<i>T. persicum</i>	<i>T. sphaerococcum</i>	<i>T. durum</i>	
Kontrola	0,70 b C	0,58 ab B	0,29 bc A	0,52 bc B	0,49 ab B	0,51 bc
<i>R. solani</i> AG-5	0,49 a C	0,54 ab C	0,22 a A	0,39 ab B	0,37 a B	0,40 a
<i>R. solani</i> AG-11C	0,59 b C	0,47 a B	0,27 b A	0,36 a A	0,37 a AB	0,41 a
<i>R. cerealis</i> AG-DI	0,67 b C	0,50 a B	0,25 ab A	0,48 a-c AB	0,51 ab B	0,48 b
<i>Rhizoctonia</i> sp. AG-B0	0,72 b C	0,62 b BC	0,34 c A	0,55 c B	0,54 b B	0,55 c
Średnia	0,63 D	0,54 C	0,28 A	0,46 B	0,45 B	0,47
Istotność efektu: genotyp <i>Rhizoctonia</i> (R) - *** <sup>2</sup> ; gatunek pszenicy (G) - ***; interakcja R×G - n.i.						

<sup>1</sup> Wartości oznaczone tymi samymi literami, małymi w kolumnach i wielkimi w wierszach, nie różnią się istotnie przy poziomie istotności  $\alpha=0,05$

<sup>2</sup> Poziom istotności efektu \*\*\* 0,001; \*\* 0,01; \* 0,05



Rys. 17. Świeża biomasa roślin [g·roślina<sup>-1</sup>]

Analiza średniej całkowitej biomasy roślin wykazała istotność wpływu wariantu inokulacyjnego i gatunku pszenicy oraz istotność interakcji czynników dla poziomu  $\alpha=0,05$ . Rośliny pszenic wariantów kontrolnych charakteryzowały się zróżnicowaną biomasa, aczkolwiek dało się zauważyć analogię rozkładu całkowitej biomasy roślin z rozkładem biomasy na pojedynczą roślinę (tabela 10, rys. 18). Największą biomasa osiągały rośliny pszenicy zwyczajnej, istotnie różniące się od pozostałych gatunków (średnio 13,1 g świeżej biomasy). Podobną biomasa osiągały rośliny pszenicy orkisz (11,5 g). Kolejną grupę stanowiły rośliny pszenicy okrągłoziałowej (9,83 g) oraz pszenicy twardej (9,65 g), z kolei najniższą biomasa całkowitą miały rośliny pszenicy perskiej (4,68 g). W przypadku zastosowania inokulacji *R. solani* AG-5 zaobserwowano, iż rośliny pszenicy orkisz oraz pszenicy zwyczajnej osiągały najwyższe wartości świeżej biomasy, odpowiednio 9,45 g oraz 8,53 g, stanowiąc zbliżoną do siebie grupę. Kolejną grupę o zbliżonych wartościach biomasy stanowiły pszenica twarda (6,28 g) oraz pszenica okrągłoziałowa (5,43 g). Pszenica perska cechowała się najniższą, istotnie różną od pozostałych badanych gatunków biomasa (1,8 g).



Pszenica zwyczajna charakteryzowała się największymi osiąganymi wartościami całkowitej biomasy roślin, zarówno w wariantach kontrolnych jak i inokulowanych. W kombinacji kontrolnej rośliny osiągnęły średnią wartość biomasy rzędu 13,1 g. Co ważne podobną wartość osiągnęły rośliny inokulowane izolatem *Rhizoctonia* AG-B0, gdzie średnia świeża biomasa wyniosła 13,13 g (fot. 7). Rośliny inokulowane *R. cerealis* AG-DI osiągnęły wartość biomasy na poziomie 12,53 g (fot. 8), stanowiąc jednorodną grupę z wariantem kontrolnym i z *Rhizoctonia* AG-B0. W przypadku kombinacji z izolatami *R. solani* wartości osiąganego biomasy były istotnie mniejsze od wspomnianych wcześniej kombinacji. Średnie wartości dla *R. solani* AG-5 wyniosły 8,53 g (fot. 5) i 9,85 g dla *R. solani* AG-1IC (fot. 2).

W przypadku pszenicy orkisz, największe wartości osiągały kombinacje kontrolne (11,5 g) oraz z *Rhizoctonia* AG-B0 (12,3 g) nie różniąc się istotnie między sobą. Ekspozycja roślin na izolaty zjadliwe powodowała zbliżone wartości osiąganego biomasy kolejno 9,45 g dla *R. cerealis* AG-DI oraz 9,68 dla *R. solani* AG-5. Największy spadek biomasy odnotowano dla kombinacji z *R. solani* AG-1IC, w której rośliny osiągnęły średnio 7 g świeżej biomasy.

Pszenica perska charakteryzowała się najniższą biomasa spośród wszystkich badanych gatunków. Warianty kontrolne osiągnęły średnio 4,68 g świeżej biomasy. z kolei kombinacja zawierająca izolat *Rhizoctonia* AG-B0 osiągnęła najwyższą biomasa (5,05 g). Inokulacja *R. solani* AG-5 skutkowała największymi stratami biomasy, osiągając zaledwie 1,8 g biomasy. Inokulacja *R. solani* AG-1IC skutkował spadkiem biomasy do 2,95 g, zaś ekspozycja roślin na *R. cerealis* AG-DI powodowała spadek masy średnio do 3,38 g.

Pszenica okrągłozłazowa charakteryzowała się największą biomasa dla wariantu z izolatem *Rhizoctonia* AG-B0 - 10,15 g, podczas gdy dla wariantu kontrolnego wynosiła ona 9,83 g. Co ważne obecność *R. cerealis* nie powodowała znacznej straty biomasy, gdyż rośliny osiągnęły 9,33 g. Wymienione warianty nie różniły się statystycznie. Największe straty biomasy odnotowano dla wariantu *R. solani* AG-1IC, gdzie rośliny osiągnęły masę 4,48 g, oraz *R. solani* AG-5 - 5,43 g.

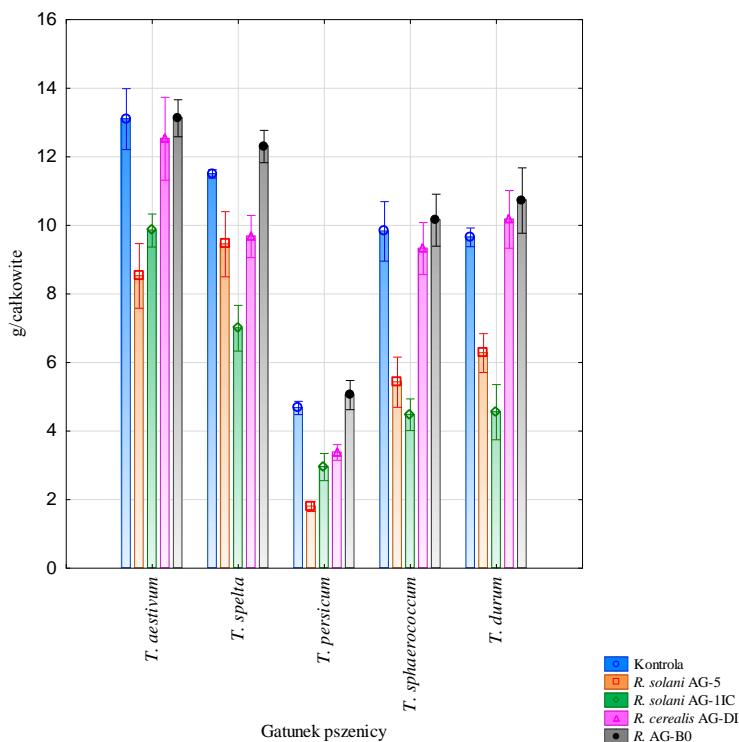
Pszenica twarda charakteryzowała się największą świeżą masą dla roślin poddanych działaniu *Rhizoctonia* AG-B0 (10,73 g), *R. cerealis* AG-DI (10,18 g) oraz w wariantcie kontrolnym (9,65 g), nie różniąc się istotnie między sobą. Największy spadek masy odnotowano w wariantcie z *R. solani* AG-1IC, w którym rośliny osiągnęły zaledwie 4,55 g oraz z *R. solani* AG-5 - 6,28 g.

Tabela 10. Świeża całkowita biomasa roślin [g] wybranych gatunków pszenicy w zależności od genotypu *Rhizoctonia* (doświadczenie wazonowe)

Genotyp <i>Rhizoctonia</i>	Gatunek pszenicy					Średnia
	<i>T. aestivum</i>	<i>T. spelta</i>	<i>T. persicum</i>	<i>T. sphaerococcum</i>	<i>T. durum</i>	
Kontrola	13,10 b C	11,50 b BC	4,68 bc A	9,83 b B	9,65 b B	9,75 bc
<i>R. solani</i> AG-5	8,53 a BC	9,45 ab C	1,80 a A	5,43 a B	6,28 a BC	6,30 a
<i>R. solani</i> AG-11C	9,85 ab C	7,00 a B	2,95 b A	4,48 a AB	4,55 a AB	5,77 a
<i>R. cerealis</i> AG-DI	12,53 b B	9,68 ab B	3,38 b A	9,33 b B	10,18 b B	9,02 b
<i>Rhizoctonia</i> sp. AG-B0	13,13 b C	12,30 b C	5,05 c A	10,15 b B	10,73 b BC	10,27 c
Średnia	11,43 D	9,99 C	3,57 A	7,84 B	8,28 B	8,22
Istotność efektu: genotyp <i>Rhizoctonia</i> (R) - *** <sup>2</sup> ; gatunek pszenicy (G) - ***; interakcja R×G - *						

<sup>1</sup> Wartości oznaczone tymi samymi literami, małymi w kolumnach i wielkimi w wierszach, nie różnią się istotnie przy poziomie istotności  $\alpha=0,05$

<sup>2</sup> Poziom istotności efektu \*\*\* 0,001; \*\* 0,01; \* 0,05



Rys. 18. Świeża całkowita biomasa roślin pszenic [g] w zależności od genotypu *Rhizoctonia* (doświadczenie wazonowe)

### 5.3.3. Indeks interakcji roślina-mikroorganizm (RII)

Analiza współczynnika relatywnej intensywności interakcji (RII) pomiędzy rośliną a mikroorganizmem (*Rhizoctonia*) wykazała istotność wpływu wariantu inokulacyjnego, nie stwierdzono natomiast istotności wpływu gatunku pszenicy oraz istotności interakcji czynników (tabela 11, rys. 19). Współczynnik ten umożliwił określenie relacji pomiędzy pojedynczą rośliną a mikroorganizmem w kontekście oddziaływań symbiotycznych, komensalizmu czy pasożytnictwa. Otrzymane wyniki zobrazowały poziom relacji pomiędzy badanymi mikroorganizmami dla poszczególnych gatunków pszenic. Nie odnotowano istotnych różnic pomiędzy gatunkami pszenic dla każdego wariantu inokulacyjnego, jak również pomiędzy wariantami dla poszczególnych badanych gatunków. Jednakże rozpatrując wartości średnie indeksu zaobserwowano, że najsilniejsze oddziaływania o charakterze pasożytniczym miały miejsce w wariantach z zastosowaniem inokulacji *R. solani* AG-5 i *R. solani* AG-11C, w których kolejno średni indeks wynosił odpowiednio -0,12 i -0,11, stanowiąc jednorodną grupę. w przypadku *R. cerealis* AG-DI średni indeks oddziaływania wynosił -0,04. Oddziaływanie w tym wariantcie miało

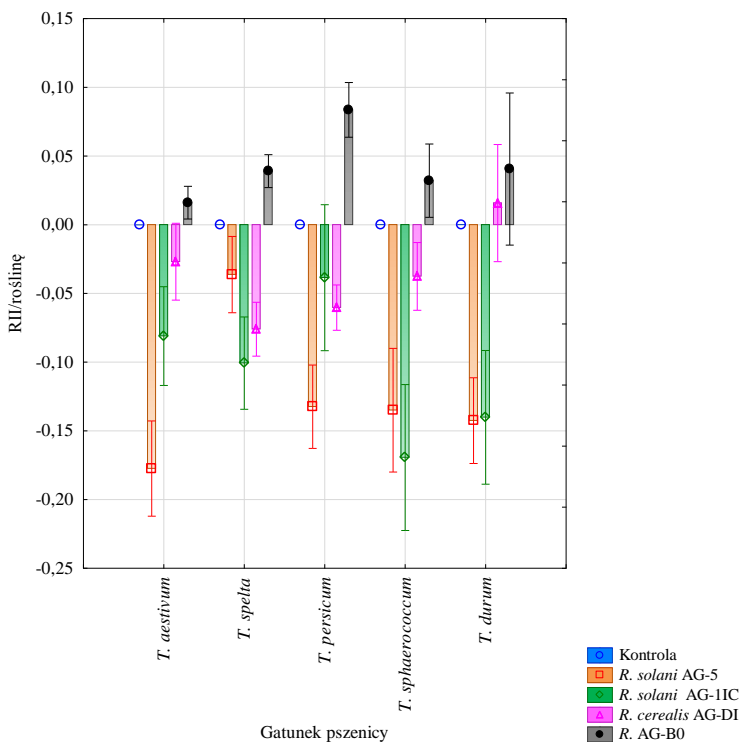
również charakter pasożytniczy, ale o mniejszym nasileniu, istotnie różny od obu wariantów *R. solani* AG-5 i *R. solani* AG-1IC. Co ważne w przypadku wariantu *Rhizoctonia* AG-B0 średnia wartość indeksu przyjmowała wartość dodatnią (0,04) i nie była istotnie różna od wariantu kontrolnego, tym samym wskazując na to, iż relacja pomiędzy mikroorganizmem a rośliną mogła mieć charakter komensalizmu. Spośród przebadanych gatunków pszenicy na *R. solani* AG-5 najmniej podatne były rośliny pszenicy orkisz, które wykazały indeks na poziomie -0,04, w porównaniu do pozostałych gatunków, u których wartość RII wynosiła -0,13 (pszenica perska i okrągłoziarnowa), -0,14 (pszenica twarda) oraz -0,18 (pszenica zwyczajna). W przypadku inokulacji *R. cerealis* AG-DI rośliny reagowały w zróżnicowany sposób, aczkolwiek osiągając wartości większe jak w przypadku *R. solani* AG-5 i *R. solani* AG-1IC. Co więcej rośliny pszenicy twardej zareagowały w sposób odwrotny do pozostałych badanych gatunków pszenic osiągając dodatnią wartość indeksu na poziomie 0,02, co może wskazywać na cechy oporności względem tego patogena. Najbardziej podatne w tym wariacie inokulacyjnym były rośliny pszenicy orkisz (-0,08) oraz pszenicy perskiej (-0,06). Na porażenie przez *R. solani* AG-1IC najbardziej podatne były rośliny pszenicy okrągłoziarnowej (-0,17) oraz twardej (-0,14), z kolei najmniej pszenicy perskiej (-0,04).

Tabela 11. Wartości współczynników relatywnej intensywności interakcji (RII) w przeliczeniu na pojedynczą roślinę pszenic w zależności od genotypu *Rhizoctonia*

Genotyp <i>Rhizoctonia</i>	Gatunek pszenicy					Średnia
	<i>T. aestivum</i>	<i>T. spelta</i>	<i>T. persicum</i>	<i>T. sphaerococcum</i>	<i>T. durum</i>	
Kontrola	0,00 b A	0,00 bc A	0,00 bc A	0,00 bc A	0,00 ab A	0,00 bc
<i>R. solani</i> AG-5	-0,18 a A	-0,04 b A	-0,13 a A	-0,13 ab A	-0,14 a A	-0,12 a
<i>R. solani</i> AG-1IC	-0,08 b A	-0,10 a A	-0,04 b A	-0,17 a A	-0,14 a A	-0,11 a
<i>R. cerealis</i> AG-DI	-0,03 b A	-0,08 ab A	-0,06 ab A	-0,04 b A	0,02 ab A	-0,04 b
<i>Rhizoctonia</i> sp. AG-B0	0,02 b A	0,04 c A	0,08 c A	0,03 c A	0,04 b A	0,04 c
Średnia	-0,05 A	-0,03 A	-0,03 A	-0,06 A	-0,05 A	-0,05
Istotność efektu: genotyp <i>Rhizoctonia</i> (R) - *** <sup>2</sup> ; gatunek pszenicy (G) - n.i.; interakcja R×G - n.i.						

<sup>1</sup> Wartości oznaczone tymi samymi literami, małymi w kolumnach i wielkimi w wierszach, nie różnią się istotnie przy poziomie istotności  $\alpha=0,05$

<sup>2</sup> Poziom istotności efektu \*\*\* 0,001; \*\* 0,01; \* 0,05



Rys. 19. Współczynniki relatywnej intensywności interakcji (RII) w przeliczeniu na pojedynczą roślinę pszenic

Analiza współczynnika RII w ujęciu całkowitej pozyskanej biomasy roślin wykazała istotność wpływu wariantu inokulacyjnego, gatunku pszenicy (na poziomie  $p = 0,05$ ) oraz istotności interakcji czynników na poziomie ( $p = 0,001$ ) (tabela 12, rys. 20). Rozpatrując średnie wartości z wariantów inokulacyjnych można dostrzec analogiczną sytuację jak w przypadku indeksu w przeliczeniu na pojedynczą roślinę. Najniższe średnie wartości indeksu zaobserwowano dla wariantów *R. solani* AG-5 i *R. solani* AG-11C, przyjmujące odpowiednio wartości -0,25 oraz -0,27, co wskazuje na oddziaływania pasożytnicze. W przypadku *R. cerealis* AG-DI wartość ta była znacznie wyższa (-0,06) różna statystycznie od obu wariantów *R. solani*, tym samym wskazującą na słabe oddziaływania pasożytnicze. Z kolei dla wariantów *Rhizoctonia* AG-B0 zaobserwowano średnią wartość RII, dodatnią na poziomie 0,03, nie różniącą się istotnie od wariantów kontrolnych, co może wskazywać na niepatogeniczny charakter izolatu względem badanych roślin.

W przypadku inokulacji *R. solani* AG-5 zaobserwowano zróżnicowaną reakcję pomiędzy gatunkami pszenic. Najsilniej zareagowały rośliny pszenicy perskiej (-0,44), następnie pszenicy okrągłoziałowej (-0,29) oraz pszenic

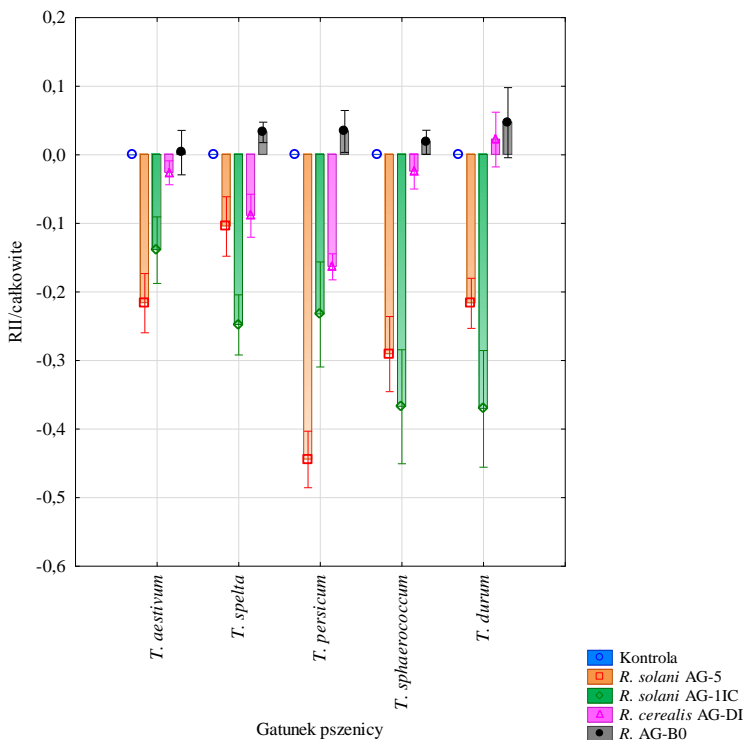
zwyczajnej i twardej (-0,22). Najmniej podatne były rośliny pszenicy orkisz (-0,11), różniąc się istotnie od pszenicy perskiej i okrągłozianrowej. Na porażenie *R. cerealis* AG-DI najbardziej podatne były rośliny pszenicy perskiej osiągające wartość indeksu -0,16, następnie rośliny pszenicy orkisz (-0,09). Nie zaobserwowano różnic między gatunkami inokulowanymi *Rhizoctonia* AG-B0, gdyż wszystkie wartości indeksu były równe 0,0 (pszenica zwyczajna) lub dodatnie. W przypadku inokulacji *R. solani* AG-11C zaobserwowano porównywalne wartości indeksu jak w przypadku *R. solani* AG-5. Najsilniej zareagowały rośliny pszenic okrągłozianrowej oraz twardej, osiągając wartości indeksu na poziomie -0,37. Następnie, na podobnym poziomie, zareagowały rośliny pszenicy orkisz (-0,25) oraz pszenicy perskiej (-0,23). Najmniej podatne okazały się rośliny pszenicy zwyczajnej (-0,14).

Tabela 12. Wartości współczynników relatywnej intensywności interakcji (RII) w odniesieniu do całkowitej uzyskanej biomasy w zależności od genotypu *Rhizoctonia*

Genotyp <i>Rhizoctonia</i>	Gatunek pszenicy					Średnia
	<i>T. aestivum</i>	<i>T. spelta</i>	<i>T. persicum</i>	<i>T. sphaerococcum</i>	<i>T. durum</i>	
Kontrola	0,00 b A	0,00 b A	0,00 bc A	0,00 b A	0,00 b A	0,00 bc
<i>R. solani</i> AG-5	-0,22 a B	-0,11 ab B	-0,44 a A	-0,29 a AB	-0,22 ab B	-0,25 a
<i>R. solani</i> AG-11C	-0,14 ab A	-0,25 a A	-0,23 b A	-0,37 a A	-0,37 a A	-0,27 a
<i>R. cerealis</i> AG-DI	-0,03 b B	-0,09 ab AB	-0,16 ab A	-0,02 b B	0,02 b B	-0,06 b
<i>Rhizoctonia</i> sp. AG-B0	0,00 b A	0,03 b A	0,03 c A	0,02 b A	0,05 b A	0,03 c
Średnia	-0,08 B	-0,08 B	-0,16 A	-0,13 AB	-0,10 AB	-0,11
Istotność efektu: genotyp <i>Rhizoctonia</i> (R) - *** <sup>2</sup> ; gatunek pszenicy (G) - **; interakcja R×G - ***						

<sup>1</sup> Wartości oznaczone tymi samymi literami, małymi w kolumnach i wielkimi w wierszach, nie różnią się istotnie przy poziomie istotności  $\alpha=0,05$

<sup>2</sup> Poziom istotności efektu \*\*\* 0,001; \*\* 0,01; \* 0,05



Rys. 20. Współczynnik relatywnej intensywności interakcji (RII) w odniesieniu do całkowitej uzyskanej biomasy

#### 5.4. Analiza aktywności chitynaz

Aktywność chitynaz w tkankach roślin zależała istotnie od gatunku pszenicy, wariantu inokulacyjnego oraz interakcji pomiędzy tymi czynnikami. Aktywność aparatu chitynolitycznego mogła zdawać się u niektórych roślin wręcz marginalna, z kolei u innych cechowała się dużymi wartościami (tabela 13, rys. 21). Najwyższą, istotnie różną, średnią aktywnością charakteryzowała się pszenica okrągłozianrowa osiągając średnio 2841,0 U. Istotnie niższą aktywność wykazywała pszenica twarda (1064,4 U). Kolejną grupę stanowiły rośliny pszenicy zwyczajnej (205,7 U) oraz pszenicy perskiej (199,6 U). Najniższą aktywnością charakteryzowały się rośliny pszenicy orkisz (112,2 U).

Odnotowano zróżnicowaną reakcję gatunków pszenic na inokulacje grzybem *R. solani* AG-5. Trzy z badanych gatunków pszenic (zwyczajna, orkisz, perska) nie różniły się istotnie między sobą. Wymienione gatunki cechowały się zbliżoną aktywnością chitynolityczną wyrażoną na jednostkę świeżej masy. Zaobserwowano natomiast silną reakcję roślin pszenicy twardej,

która w odpowiedzi generowała ponad 774,5 U·g<sup>-1</sup> świeżej masy. Najsilniej zareagowały natomiast rośliny pszenicy okrągłoziałowej, która generowała ponad 3652,4 u wyrażanych jako nMol ekwiwalentów glukozy h<sup>-1</sup>·g<sup>-1</sup> ŚM.

Ekspozycja roślin na *R. cerealis* AG-DI powodowała zbliżoną reakcję roślin jak w przypadku inokulacji *R. solani* AG-5. Zaobserwowano słabszą reakcję roślin pszenicy orkisz na badanego patogena. Średnio tkanki tego gatunku generowały 57 U. Była to znacznie słabsza reakcja w porównaniu do ekspozycji na *R. solani* AG-5. Zbliżonymi aktywnościami charakteryzowały się natomiast rośliny pszenicy zwyczajnej oraz pszenicy perskiej. W przypadku pszenicy twardej jak i pszenicy okrągłoziałowej zaobserwowano istotnie wyższe wartości aktywności chitynolitycznej w tkankach.

Ekspozycja na izolat *Rhizoctonia* AG-B0 spowodowała pobudzenie aparatu chitynolitycznego o rozkładzie podobnym jak w przypadku inokulacji *R. solani* AG-5. Trzy gatunki pszenic, tj. pszenica zwyczajna, orkisz oraz perska nie różniły się istotnie między sobą. Zaobserwowano natomiast istotnie większe aktywności w tkankach pszenicy twardej oraz okrągłoziałowej. Należy zaznaczyć, iż doszło do pobudzenia aparatu chitynolitycznego w tkankach roślin przy jednoczesnym braku jakichkolwiek objawów chorobowych. Można przypuszczać, iż ekspozycja roślin na niepatogeniczny mikroorganizm może doprowadzić do zwiększenia aktywności białek z grupy defensyn, które odpowiadają za pośrednie oraz bezpośrednie zwalczanie patogenów w ustroju roślin. Inokulacja roślin grzybem *R. solani* AG-11C również powodowała wzrost aktywności chitynaz. Najmniej aktywne były tkanki pszenicy orkisz, pszenicy zwyczajnej oraz pszenicy perskiej, natomiast najmocniej zareagowały rośliny pszenicy okrągłoziałowej.

W przypadku pszenicy twardej zaobserwowano znaczący spadek aktywność wszystkich roślin inokulowanych względem wariantu kontrolnego. Aktywność roślin kontrolnych wynosiła 2539,7 U. Z kolei aktywność chitynaz roślin inokulowanych była niższa, przyjmując wartości od 611,3 u (*R. cerealis* AG-DI) do 774,5 u (*R. solani* AG-5). Kombinacje te nie różniły się między sobą.

Nie zaobserwowano istotnych różnic między wariantami inokulacyjnymi w aktywności chitynaz u pszenicy zwyczajnej, pszenicy orkisz oraz pszenicy perskiej. Istotnie różnice między wariantami zaobserwowano natomiast dla pszenicy okrągłoziałowej, która zarazem charakteryzowała się najwyższą aktywnością chitynolityczną w tkankach. W przypadku tej pszenicy zaobserwowano znaczący wzrost aktywności chitynaz (względem próbki kontrolnej o średniej aktywności 935,1 U) dla wszystkich wariantów. Rośliny inokulowane zarówno grzybami patogenicznymi jak i izolatem *Rhizoctonia* AG-B0 (5044,5 U) wykazywały znacząco większą aktywność enzymów. Aktywność ta była istotnie większa od roślin poddanych działaniu *R. solani*



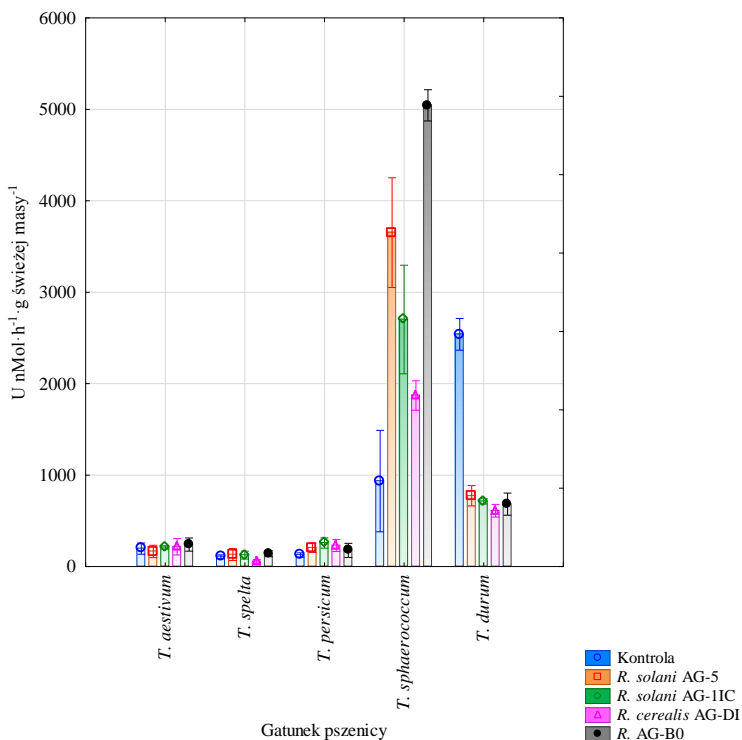
AG-1IC (2702,1 U) oraz *R. cerealis* AG-DI (1870,8 U). Zaobserwowano istotne różnice między wariantem *Rhizoctonia* AG-B0 i *R. solani* AG-5 (3652,4 U). Genotyp ten charakteryzował się istotnie większą aktywnością chitynaz na tle pozostałych gatunków. Co istotne rośliny tego gatunku najsilniej zareagowały w kombinacjach z grzybem niepatogenicznym. Wszystkie warianty inokulacyjne izolatami zjadliwymi powodowały zbliżone tendencje aktywności badanych defensyn, sugerując, iż w przypadku aktywności chitynolitycznej w odpowiedzi na patogeny badane gatunki uruchamiały podobne mechanizmy obronne.

Tabela 13. Aktywność chitynaz w tkance roślinnej wybranych gatunków pszenicy [nMol·h<sup>-1</sup>·g świeżej masy<sup>-1</sup>] w zależności od genotypu *Rhizoctonia*

Genotyp <i>Rhizoctonia</i>	Gatunek pszenicy					Średnia
	<i>T. aestivum</i>	<i>T. spelta</i>	<i>T. persicum</i>	<i>T. sphaerococcum</i>	<i>T. durum</i>	
Kontrola	196,5 a AB	107,8 a A	126,8 a A	935,1 a B	2539,7 b C	781,2 a
<i>R. solani</i> AG-5	165,8 a A	130,5 a A	205,5 a A	3652,4 b C	774,5 a B	985,7 a
<i>R. solani</i> AG-1IC	209,6 a A	125,3 a A	258,1 a AB	2702,1 b C	713,7 a B	801,8 a
<i>R. cerealis</i> AG-DI	216,3 a AB	57,0 a A	230,6 a B	1870,8 ab D	611,3 a C	597,2 a
<i>Rhizoctonia</i> sp. AG-B0	240,6 a AB	140,5 a A	177,1 a A	5044,5 c C	682,6 a B	1257,1 a
Średnia	205,7 B	112,2 A	199,6 B	2841,0 D	1064,4 C	884,6
Istotność efektu: genotyp <i>Rhizoctonia</i> (R) - *** <sup>2</sup> ; gatunek pszenicy (G) - ***; interakcja R×G - ***						

<sup>1</sup> Wartości oznaczone tymi samymi literami, małymi w kolumnach i wielkimi w wierszach, nie różnią się istotnie przy poziomie istotności  $\alpha=0,05$

<sup>2</sup> Poziom istotności efektu \*\*\* 0,001; \*\* 0,01; \* 0,05



Rys. 21. Aktywność chitynaz w tkance roślinnej pszenicy [ $U \text{ nMol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g świeżej masy}^{-1}$ ] w zależności od genotypu *Rhizoctonia*

Analiza aktywności specyficznej chitynaz w tkance roślin, w przeliczeniu na miligram białka, wykazała brak istotności czynnika wariantu inokulacyjnego, istotność czynnika gatunku oraz interakcji pomiędzy czynnikami. Rozpatrując wartości średnie pomiędzy gatunkami pszenic zaobserwowano istotne różnice aktywności chitynaz (tabela 14, rys. 22). Najbardziej aktywne były rośliny pszenicy okrągłoziarnej (581,6 U), następnie rośliny pszenicy twardej (159 U), kolejną grupę stanowiły rośliny pszenicy zwyczajnej (33,2 U) i pszenicy perskiej (22,7 U). Najniższą średnią aktywnością chitynaz odznaczały się rośliny pszenicy orkisz (12,7 U).

Inokulacja roślin izolatem *R. solani* AG-5 spowodowała podobny rozkład aktywności specyficznej chitynaz jak w przypadku aktywności ogólnej. Mianowicie zaobserwowano, iż rośliny pszenicy zwyczajnej, pszenicy orkisz oraz perskiej stanowiły jednorodną grupę o najmniejszych wartościach aktywności specyficznej (14,0–20,6 U). Wyższą aktywnością charakteryzowały się rośliny pszenicy twardej, generując 125,6 u w ciągu godziny. Największą aktywnością ponownie charakteryzowały się rośliny pszenicy okrągłoziarnej,

której aktywność specyficzna wynosiła 636,3 nMol ekwiwalentów glukozy uwalnianych w czasie godziny.

Ekspozycja roślin na działanie *R. cerealis* AG-DI powodowała analogiczny rozkład aktywności enzymów jak w przypadku całkowitej obserwowanej aktywności w tkankach. Mianowicie najniższą aktywnością specyficzną na tle wszystkich badanych genotypów charakteryzowała się pszenica orkisz. Średnio w tym wariancie inokulacyjnym enzymy uwalniały 5,9 nMol·h<sup>-1</sup> ekwiwalentów glukozy. Wyższą aktywnością charakteryzowały się enzymy pszenic perskiej oraz zwyczajnej, które generowały nieco ponad 30 U. Dużo większą aktywnością charakteryzowały się rośliny pszenicy twardej (88,9 U), a największą ponownie pszenica okrągłozłaznowa, której enzymy uwalniały 374,9 nMol ekwiwalentów glukozy w ciągu jednej godziny.

Ekspozycja roślin na *Rhizoctonia* AG-B0 powodowała najsilniejszą reakcję w roślinach pszenicy okrągłozłaznowej, podobnie jak w ujęciu całkowitej obserwowanej aktywności tkanek. Specyficzna aktywność chitynaz tej pszenicy wynosiła 1214,2 nMol ekwiwalentów glukozy uwalnianych w ciągu godziny.

Inokulacja roślin *R. solani* z grupy AG-1IC powodowała zbliżoną reakcję gatunków pszenic jak w przypadku *R. solani* AG-5. Roślinami o najniższej specyficznej aktywności były rośliny pszenicy orkisz (12,4 U). Ponownie istotnie najsilniej reagowały rośliny pszenicy okrągłozłaznowej (483,1 U).

Badane gatunki pszenic charakteryzowały się zróżnicowaną aktywnością enzymów. Podobnie jak w przypadku aktywności chitynolitycznej w przeliczeniu na gram świeżej masy, tak samo w ujęciu aktywności na miligram białka u niektórych roślin była znacząco niższa, z kolei u innych cechowała się dużymi wartościami. Analogicznie jak w poprzednim punkcie nie zaobserwowano istotnych różnic między trzema gatunkami pszenic, tj. pszenicy zwyczajnej, orkisz i perskiej. Zaobserwowano natomiast istotne różnice między kontrolą a wszystkimi wariantami inokulacyjnymi dla pszenicy okrągłozłaznowej i twardej. W przypadku pszenicy twardej zaobserwowano znacznie wyższą aktywność roślin kontrolnych (390,5 U) w porównaniu do kombinacji inokulowanych.

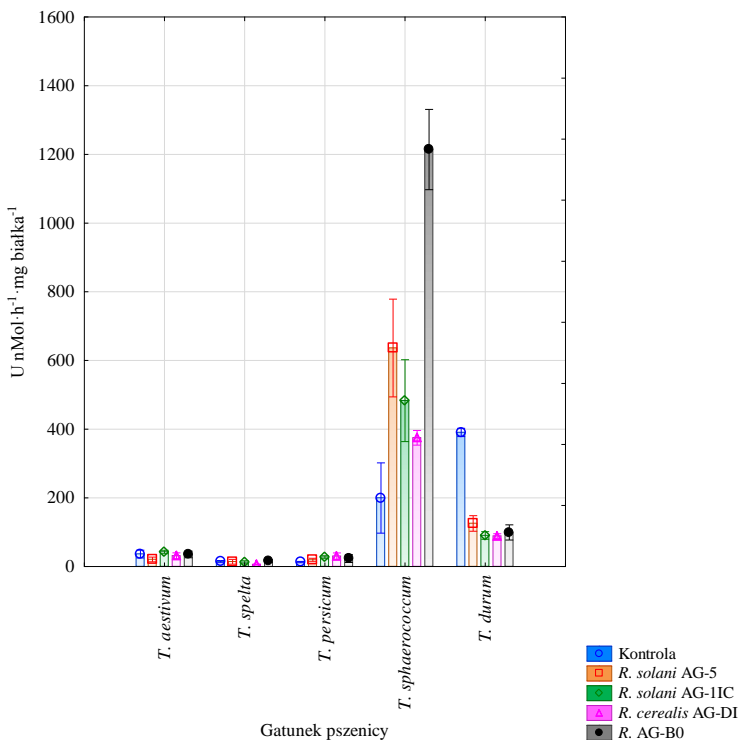
W przypadku pszenicy okrągłozłaznowej, analogicznie jak w przypadku aktywności wyrażanej na gram świeżej biomasy, największą wartość aktywności osiągały rośliny poddane działaniu *Rhizoctonia* AG-B0 (1214,2 U), następnie *R. solani* AG-5 (636,3 U), *R. solani* AG-1IC (483,1 U) oraz *R. cerealis* AG-DI (374,9 U). Rośliny poddane działaniu *Rhizoctonia* AG-B0 różniły się istotnie od roślin wszystkich wariantów inokulacyjnych.

Tabela 14. Aktywność chitynaz w tkance roślinnej wybranych gatunków pszenic [nMol·h<sup>-1</sup>·mg białka<sup>-1</sup>] w zależności od genotypu *Rhizoctonia*

Genotyp <i>Rhizoctonia</i>	Gatunek pszenicy					Średnia
	<i>T. aestivum</i>	<i>T. spelta</i>	<i>T. persicum</i>	<i>T. sphaerococcum</i>	<i>T. durum</i>	
Kontrola	36,3 a A	14,5 a A	12,9 a A	199,5 a B	390,5 b B	130,8 a
<i>R. solani</i> AG-5	20,6 a A	14,0 a A	19,2 a A	636,3 b C	125,6 a B	163,1 a
<i>R. solani</i> AG-IIC	42,5 a B	12,4 a A	27,2 a AB	483,1 ab D	90,5 a C	131,1 a
<i>R. cerealis</i> AG-DI	31,2 a B	5,9 a A	30,4 a B	374,9 ab D	88,9 a C	106,3 a
<i>Rhizoctonia</i> sp. AG-B0	35,4 a AB	16,5 a A	23,4 a A	1214,2 c C	99,6 a B	277,8 a
Średnia	33,2 B	12,7 A	22,6 B	581,6 D	159,0 C	161,8
Istotność efektu: genotyp <i>Rhizoctonia</i> (R) - n.i. <sup>2</sup> ; gatunek pszenicy (G) - ***; interakcja R×G - **						

<sup>1</sup> Wartości oznaczone tymi samymi literami, małymi w kolumnach i wielkimi w wierszach, nie różnią się istotnie przy poziomie istotności  $\alpha=0,05$

<sup>2</sup> Poziom istotności efektu \*\*\* 0,001; \*\* 0,01; \* 0,05



Rys. 22. Aktywność chitynaz w tkance roślinnej pszenic [U nMol·h<sup>-1</sup>·mg białka<sup>-1</sup>] w zależności od genotypu *Rhizoctonia*

### 5.5. Analiza aktywności glukanaz

Analiza ogólnej aktywności  $\beta$ -1,3-glukanaz w tkance roślin wykazała istotność czynnika wariantu inokulacyjnego, gatunku pszenicy oraz interakcji między tymi czynnikami (tabela 15, rys. 23). Analizowane pszenice charakteryzowały się zróżnicowaną aktywnością enzymów, aczkolwiek nie zaobserwowano tak dużego zróżnicowania aktywności enzymów jak w przypadku chitynaz. Rozpatrując średnie aktywności glukanaz wybranych wariantów inokulacyjnych zaobserwowano, iż największe wartości aktywności przyjmowały rośliny inokulowane *R. solani*. Wartości pośrednie obserwowano dla roślin inokulowanych *R. cerealis* AG-DI, z kolei najniższe dla wariantu kontrolnego oraz inokulowanego *Rhizoctonia* AG-B0. Rozpatrując średnie wartości dla ogólnej aktywności  $\beta$ -1,3-glukanaz w tkankach różnych gatunków pszenic, największą aktywnością charakteryzowały się rośliny pszenicy twardej oraz perskiej, generując odpowiednio 357,1 u oraz 305,2 u aktywności. Kolejną grupę stanowiły rośliny pszenicy zwyczajnej (187, 9 U) oraz pszenicy orkisz (179,7 U). Najniższą aktywność wykazywały rośliny pszenicy okrągłozianowej

(125,9 U). Ekspozycja roślin na działanie *R. solani* AG-5 powodowała pobudzenie aktywności glukanaz w tkankach roślin. Najslabiej reagowały rośliny pszenicy okrągłozłaznowej (107,6 U). Z kolei najmocniej reagowały rośliny pszenicy twardej (364,81 U) oraz pszenicy perskiej (422,7 U). Inokulacja *R. cerealis* AG-DI powodowała reakcje o podobnym rozkładzie jak przy ekspozycji na *R. solani* AG-5 ale o mniejszym nasileniu. Podobnie roślinami o najmniejszej aktywności całkowitej glukanaz była pszenica okrągłozłaznowa (86,1 U) i pszenica orkisz (148,2 U). Najsilniej na patogena reagowały pszenica perska (355,5 U) oraz pszenica twarda (345,9 U) istotnie różniąc się od pozostałych gatunków. W przypadku ekspozycji roślin na *Rhizoctonia* AG-B0 w kontekście całkowitej aktywności glukanaz zaobserwowano zróżnicowaną reakcje roślin, podobną do wariantów inokulowanych izolatami zjadliwymi. Należy zaznaczyć, iż tkanki roślin generowały podobny poziom aktywności chitynaz jak w przypadku, kiedy roślina była atakowana przez patogena. Sugeruje to, iż rośliny działały w podobny sposób poprzez ogólną indukcję enzymów o działaniu chitynolitycznym. Sytuacja taka może mieć miejsce w momencie, kiedy receptory roślinne rozpoznają składniki ściany komórkowej mikroorganizmów (chityna). W wariacie z *Rhizoctonia* AG-B0 w najmniejszym stopniu pobudzone były tkanki pszenicy okrągłozłaznowej (58,2 U). Najbardziej pobudzone okazały się pszenica twarda (335,7 U) oraz pszenica orkisz (223,5 U). Tym samym oba wymienione genotypy okazały się najbardziej responsywne rozpatrując stopień pobudzenia enzymów z grupy glukanaz przez obecność awirulentnego izolatu *Rhizoctonia*.

Inokulacja roślin izolatem *R. solani* AG-IIC powodowała podobny rozkład aktywności glukanaz wśród badanych gatunków pszenic jak w przypadku inokulacji *R. solani* AG-5 i *R. cerealis* AG-DI. Niższą aktywnością całkowitą odznaczały się pszenica zwyczajna, okrągłozłaznowa oraz orkisz a wyższą pszenica twarda oraz perska.

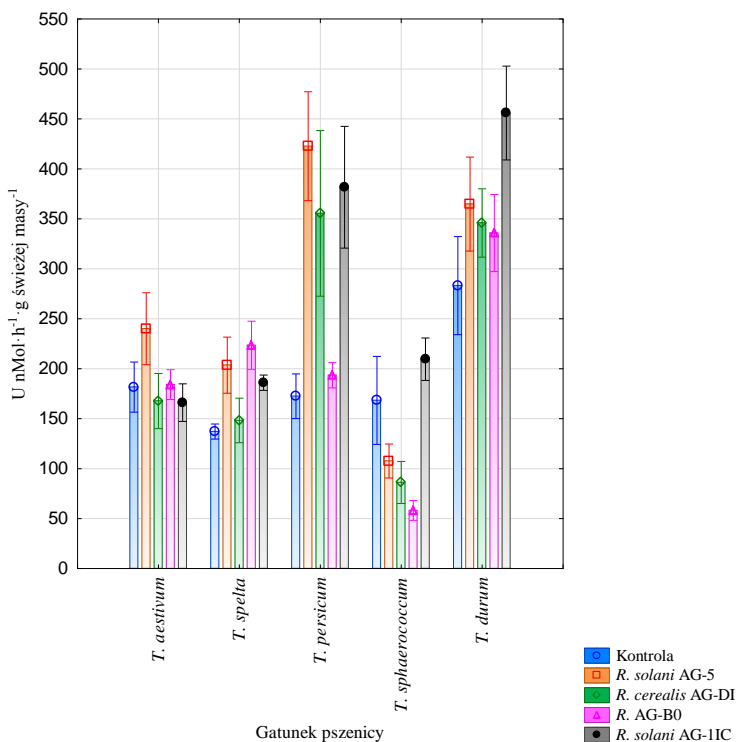
W przypadku pszenicy zwyczajnej i pszenicy twardej nie zaobserwowano różnic w aktywności enzymatycznej pomiędzy kombinacjami inokulacyjnymi. Największą wartość ogólną aktywności glukanaz stwierdzono u roślin pszenicy orkisz traktowanej *Rhizoctonia* AG-B0 (223,5 U), a najmniejszą dla roślin kontrolnych (137,1 U). Wszystkie warianty patogeniczne charakteryzowały się wysoką aktywnością enzymów. Rośliny pszenicy perskiej inokulowane *R. solani* AG-5 osiągały ponad 422,7 u aktywności, a kontrolne tylko 172,5 U. Pszenica okrągłozłaznowa charakteryzowała się najniższą obserwowaną całkowitą aktywnością glukanaz w tkankach roślin. Najmniej aktywne były rośliny, które miały styczność z *Rhizoctonia* AG-B0 (58,2 U). Z kolei najsilniej pobudzone były rośliny poddane działaniu *R. solani* AG-IIC (209,5 U).

Tabela 15. Aktywność glukanaz w tkance roślinnej wybranych gatunków pszenicy [U nMol·h<sup>-1</sup>·g świeżej masy<sup>-1</sup>] w zależności od genotypu *Rhizoctonia*

Genotyp <i>Rhizoctonia</i>	Gatunek pszenicy					Średnia
	<i>T. aestivum</i>	<i>T. spelta</i>	<i>T. persicum</i>	<i>T. sphaerococcum</i>	<i>T. durum</i>	
Kontrola	181,6 a A	137,1 a A	172,5 a A	168,3 bc A	283,2 a A	188,5 a
<i>R. solani</i> AG-5	240,1 a BC	203,6 ab B	422,7 c C	107,6 a-c A	364,8 a BC	267,8 bc
<i>R. solani</i> AG-11C	166,1 a A	186,0 ab A	381,6 bc B	209,5 c AB	455,9 a B	279,8 c
<i>R. cerealis</i> AG-DI	167,6 a AB	148,2 ab A	355,5 b B	86,1 ab A	345,9 a B	220,7 b
<i>Rhizoctonia</i> sp. AG-B0	184,1 a B	223,5 b BC	193,5 a B	58,2 a A	335,7 a C	199,0 a
Średnia	187,9 B	179,7 B	305,2 C	125,9 A	357,1 C	231,2
Istotność efektu: genotyp <i>Rhizoctonia</i> (R) - *** <sup>2</sup> ; gatunek pszenicy (G) - ***; interakcja R×G - **						

<sup>1</sup> Wartości oznaczone tymi samymi literami, małymi w kolumnach i wielkimi w wierszach, nie różnią się istotnie przy poziomie istotności  $\alpha=0,05$

<sup>2</sup> Poziom istotności efektu \*\*\* 0,001; \*\* 0,01; \* 0,05



Rys. 23. Aktywność glukanaz w tkance roślinnej [ $U \text{ nMol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g świeżej masy}^{-1}$ ]

Analiza aktywności specyficznej  $\beta$ -1,3-glukanaz w tkance roślin wykazała zróżnicowanie w zależności od wariantu inokulacyjnego, gatunku pszenicy oraz interakcji pomiędzy tymi czynnikami (tabela 16, rys. 24). Rozpatrując wartości średnie dla kombinacji zaobserwowano zróżnicowaną aktywność specyficzną we wszystkich badanych wariantach inokulacyjnych. Średnio dla gatunków pszenic najniższą aktywność specyficzną odnotowano po zastosowaniu inokulacji *Rhizoctonia* AG-B0 (28,1 U), natomiast najwyższą dla *R. solani* AG-1IC (37,1 U). Biorąc pod uwagę wartości średnie dla gatunków zaobserwowano, iż największą aktywnością specyficzną charakteryzowały się rośliny pszenicy twardej (51,8 U), a najmniejszą rośliny pszenicy zwyczajnej (31,4 U) i pszenicy perskiej (33,4 U).

Rozpatrując różnice pomiędzy gatunkami w każdym wariantcie inokulacyjnym stwierdzono pewne zróżnicowanie. Inokulacja roślin *R. solani* AG-5 powodowała najsłabszą reakcję u roślin pszenicy okrągłoziałowej (18,4 U) oraz pszenicy orkisz (20,2 U). Najsilniejszą reakcją odznaczała się pszenica twarda (58,2 U). *R. cerealis* AG-DI powodował zbliżoną reakcję roślin jak w przypadku *R. solani* AG-5. Najsłabszą aktywność ponownie obserwowano dla pszenicy orkisz (15,6 U) i pszenicy okrągłoziałowej (18,9 U), najsilniejszą dla pszenicy twardej (51,1 U) i pszenicy perskiej (44,9 U). W przypadku



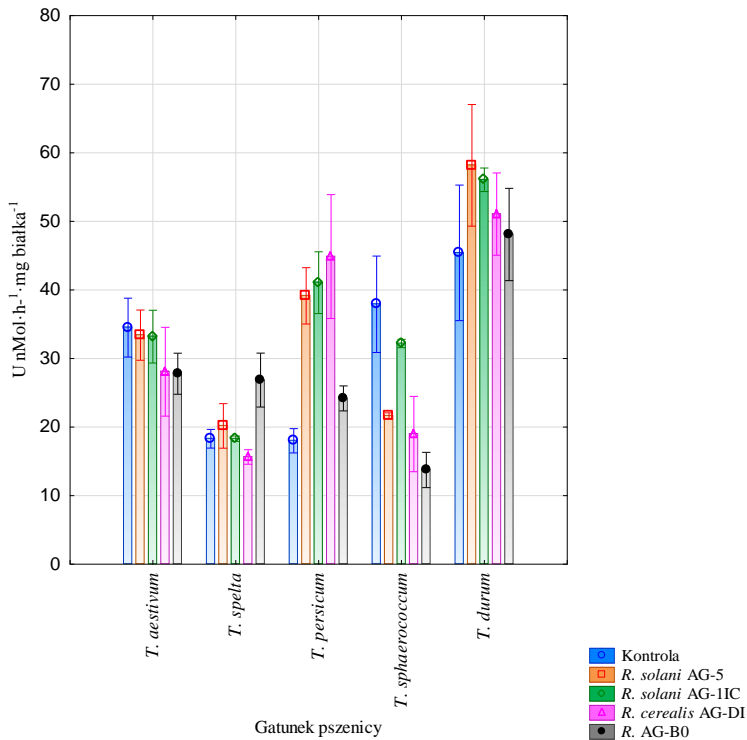
inokulacji *R. solani* AG-1IC stwierdzono, iż gatunki zareagowały w podobny sposób jak w przypadku poprzednich patogenów za wyjątkiem pszenicy okrągłozłaznowej, która zareagowała mocniej jak w przypadku inokulacji *R. cerealis* AG-DI i *R. solani* AG-5. W przypadku inokulacji wykonanej *Rhizoctonia* AG-B0 najmniejszą aktywnością charakteryzowała się pszenica okrągłozłaznowa (13,7 U), najwyższą pszenica twarda (48,1 U). W przypadku pszenicy perskiej zaobserwowano, iż wszystkie warianty z inokulacją izolatami wirulentnymi były bardziej aktywne w porównaniu do aktywności roślin kontrolnych. Z kolei pszenica okrągłozłaznowa charakteryzowała się największymi zaobserwowanymi wartościami dla wariantu kontrolnego (37,9 U). Pszenica twarda charakteryzowała się najwyższą obserwowaną aktywnością enzymu w każdej kombinacji badawczej. Zarówno wariant kontrolny jak i z wykonanymi inokulacjami charakteryzowały się wyższymi wartościami aktywności specyficznej w porównaniu do reszty badanych pszenic. Co prawda nie zaobserwowano jednak istotnych różnic pomiędzy kombinacjami inokulacyjnymi w obrębie tego gatunku. Co ciekawe nawet wariant kontrolny charakteryzował się wyższą wartością aktywności enzymu, sugerując, iż badany gatunek może wykazywać cechy wysokiej aktywności w stanie konstytutywnym, tj. wykazywać wyższą zawartość enzymu w tkankach nie będących w stanie wzbudzonym obecnością patogena.

Tabela 16. Aktywność glukanaz w tkance roślinnej wybranych gatunków pszenic [nMol·h<sup>-1</sup>·mg białka<sup>-1</sup>] w zależności od genotypu *Rhizoctonia*

Genotyp <i>Rhizoctonia</i>	Gatunek pszenicy					Średnia
	<i>T. aestivum</i>	<i>T. spelta</i>	<i>T. persicum</i>	<i>T. sphaerococcum</i>	<i>T. durum</i>	
Kontrola	34,5 a AB	18,3 ab A	18,0 a A	37,9 b B	45,4 a B	30,8 ab
<i>R. solani</i> AG-5	33,4 a B	20,2 ab A	39,1 b BC	18,4 ab A	58,2 a C	33,9 ab
<i>R. solani</i> AG-1IC	33,2 a B	18,3 ab A	41,1 bc B	36,9 ab B	56,1 a C	37,1 b
<i>R. cerealis</i> AG-DI	28,1 a AB	15,6 a A	44,9 c B	18,9 ab A	51,1 a B	31,7 ab
<i>Rhizoctonia</i> sp. AG-B0	27, 8 a AB	26,9 b AB	24,2 ab AB	13,7 a A	48,1 a B	28,1 a
Średnia	31,4 B	19,9 A	33,5 B	25,2 A	51,8 C	32,3
Istotność efektu: genotyp <i>Rhizoctonia</i> (R) - n.i. <sup>2</sup> ; gatunek pszenicy (G) - ***; interakcja R×G - **						

<sup>1</sup> Wartości oznaczone tymi samymi literami, małymi w kolumnach i wielkimi w wierszach, nie różnią się istotnie przy poziomie istotności  $\alpha=0,05$

<sup>2</sup> Poziom istotności efektu \*\*\* 0,001; \*\* 0,01; \* 0,05



Rys. 24. Aktywność glukanaz w tkance roślinnej pszenic [ $U \text{ nMol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg białka}^{-1}$ ] w zależności od genotypu *Rhizoctonia*

## 5.6. Analiza aktywności dysmutazy ponadtlenkowej

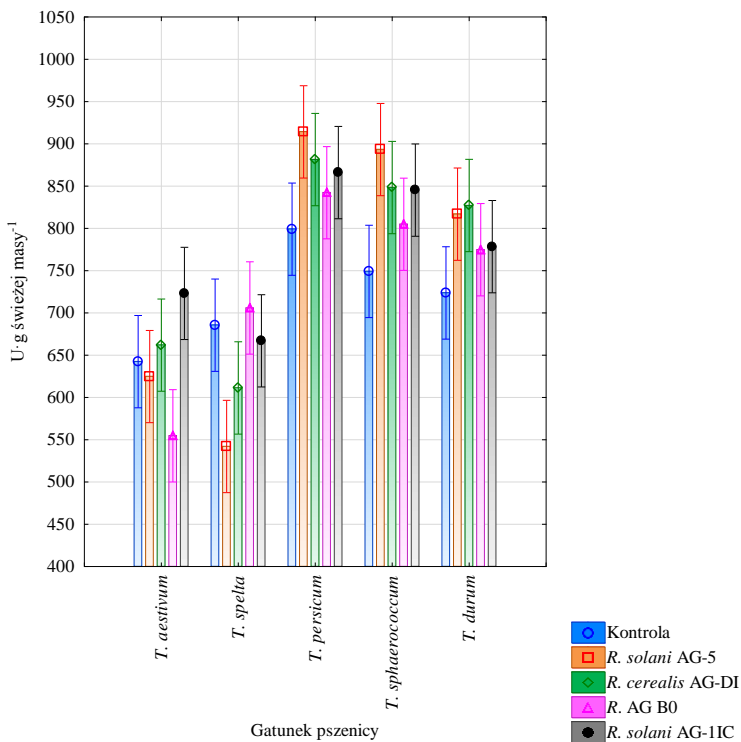
Ogólna aktywność dysmutazy ponadtlenkowej zależała od gatunku pszenicy (tabela 17, rys. 25). Gatunkami o najmniejszej aktywności dysmutazy ponadtlenkowej w tkankach roślin w ujęciu ogólnym była pszenica zwyczajna (641,4 U) oraz pszenica orkisz (642,3 U). Największą aktywnością charakteryzowała się pszenica perska (860,6 U). Wszystkie przebadane warianty inokulacyjne, zarówno te z izolatami wirulentnymi jak i awirulentnym, nie wykazały istotnych różnic, zarówno dla poszczególnych gatunków jak i wartości średnich.

Tabela 17. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w tkance roślinnej wybranych gatunków pszenic [U·g świeżej masy<sup>-1</sup>] w zależności od genotypu *Rhizoctonia*

Genotyp <i>Rhizoctonia</i>	Gatunek pszenicy					Średnia
	<i>T. aestivum</i>	<i>T. spelta</i>	<i>T. persicum</i>	<i>T. sphaerococcum</i>	<i>T. durum</i>	
Kontrola	642,4 a A	685,5 a A	799,1 a A	749,1 a A	723,7 a A	719,9 a
<i>R. solani</i> AG-5	624,8 a A	542,0 a A	914,2 a B	893,3 a B	816,9 a B	758,2 a
<i>R. solani</i> AG-11C	723,1 a A	667,0 a A	866,0 a A	845,3 a A	778,4 a A	775,9 a
<i>R. cerealis</i> AG-DI	661,9 a AB	611,3 a A	881,4 a C	848,3 a BC	827,1 a B	766,0 a
<i>Rhizoctonia</i> sp. AG-B0	554,7 a A	705,9 a AB	842,2 a B	804,9 a AB	774,7 a AB	736,4 a
Średnia	641,4 A	642,3 A	860,6 C	828,2 B	784,2 AB	751,3
Istotność efektu: genotyp <i>Rhizoctonia</i> (R) - n.i. <sup>2</sup> ; gatunek pszenicy (G) - ***; interakcja R×G - n.i.						

<sup>1</sup> Wartości oznaczone tymi samymi literami, małymi w kolumnach i wielkimi w wierszach, nie różnią się istotnie przy poziomie istotności  $\alpha=0,05$

<sup>2</sup> Poziom istotności efektu \*\*\* 0,001; \*\* 0,01; \* 0,05



Rys. 25. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w tkance roślinnej pszenic [U·g świeżej masy<sup>-1</sup>] w zależności od gatunku *Rhizoctonia*

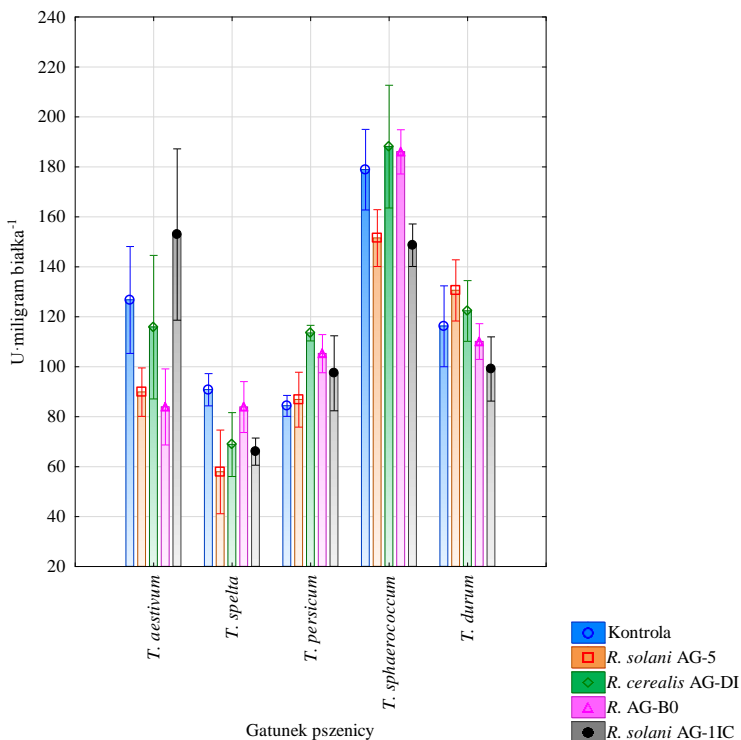
Analiza specyficznej aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) wykazała tylko istotność czynnika gatunku oraz interakcji pomiędzy czynnikami. Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy wariantami inokulacyjnymi, zarówno w ujęciu średnich wartości, jak i dla poszczególnych gatunków (tabela 18, rys. 26). W ujęciu wartości średnich najwyższą aktywnością charakteryzowały się rośliny pszenicy okrągłozirnowej generujące ponad 170,6 u aktywności SOD. Najmniejszą aktywnością specyficzną charakteryzowały się rośliny pszenicy orkisz (73,5 U).

Tabela 18. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w tkance roślinnej wybranych gatunków pszenic [U·mg białka<sup>-1</sup>] w zależności od genotypu *Rhizoctonia*

Genotyp <i>Rhizoctonia</i>	Gatunek pszenicy					Średnia
	<i>T. aestivum</i>	<i>T. spelta</i>	<i>T. persicum</i>	<i>T. sphaerococcum</i>	<i>T. durum</i>	
Kontrola	126,7 a AB	90,8 b A	84,3 a A	178,9 a B	116,2 a AB	119,3 a
<i>R. solani</i> AG-5	89,8 a AB	57,9 a A	86,8 a AB	151,5 a B	130,6 a B	103,3 a
<i>R. solani</i> AG-11C	152,9 a B	66,0 a A	97,4 ab AB	148,6 a B	99,1 a AB	112,8 a
<i>R. cerealis</i> AG-DI	115,8 a AB	68,9 a A	113,5 b AB	188,1 a B	122,3 a AB	121,7 a
<i>Rhizoctonia</i> sp. AG-B0	83,9 a A	83,9 ab A	105,2 ab AB	186,0 a B	110,1 a AB	113,8 a
Średnia	113,8 AB	73,5 A	97,4 A	170,6 C	115,7 B	114,2
Istotność efektu: genotyp <i>Rhizoctonia</i> (R) - n.i. <sup>2</sup> ; gatunek pszenicy (G) - ***; interakcja R×G - **						

<sup>1</sup> Wartości oznaczone tymi samymi literami, małymi w kolumnach i wielkimi w wierszach, nie różnią się istotnie przy poziomie istotności  $\alpha=0,05$

<sup>2</sup> Poziom istotności efektu \*\*\* 0,001; \*\* 0,01; \* 0,05



Rys. 26. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w tkance roślinnej pszenicy [U·mg białka<sup>-1</sup>] w zależności od gatunku *Rhizoctonia*

### 5.7. Analiza zawartości wolnych cukrów

Analiza zawartości wolnych cukrów w świeżej tkance roślin wykazała istotne zróżnicowanie w zależności od wariantu inokulacyjnego, gatunku pszenicy, jak również interakcję pomiędzy tymi czynnikami (tabela 19, rys. 27). Rozpatrując wartości średnie, najmniej wolnych cukrów stwierdzono po zastosowaniu inokulacji *R. cerealis* AG-DI (8076,5 µg) a najwięcej dla *R. solani* AG-1IC (9607,0 µg). W przypadku różnic zawartości badanego analitu w tkankach poszczególnych gatunków roślin zaobserwowano znaczące różnice pomiędzy nimi. Najwyższe wartości wolnych cukrów stwierdzono w tkankach pszenicy okrągłoziałowej (14546,5 µg) oraz pszenicy twardej (13909,5 µg). Kolejną grupę stanowiły rośliny pszenicy perskiej (6908 µg). Trzecią grupę, o najmniejszej zawartości cukrów, stanowiły rośliny pszenicy orkisz (4213 µg) i pszenicy zwyczajnej (4661,4 µg). Rozpatrując różnice pomiędzy gatunkami roślin na tle wariantów inokulacyjnych zaobserwowano wyraźne zróżnicowanie. Po inokulacji *R. solani* AG-5 najmniejszą zawartość wolnych cukrów zaobserwowano w tkankach pszenicy zwyczajnej (4621,2 µg) i pszenicy orkisz (4693,1 µg). Największą zawartością cukrów

charakteryzowały się tkanki pszenicy okrągłoziałowej (13773  $\mu\text{g}$ ) i pszenicy twardej (13485,8  $\mu\text{g}$ ). Po inokulacji *R. cerealis* AG-DI jak i *R. solani* AG-IIC zaobserwowano analogiczny rozkład zawartości wolnych cukrów jak dla *R. solani* AG-5. W przypadku traktowania roślin izolatem *Rhizoctonia* AG-B0 obserwowano zbliżony rozkład cechy jak dla inokulacji roślin izolatami wirulentnymi. Ponownie najmniejszymi wartościami zawartości cukrów charakteryzowały się rośliny pszenicy orkisz (4545,9  $\mu\text{g}$ ), a największymi tkanki pszenicy okrągłoziałowej (14345,2  $\mu\text{g}$ ) i pszenicy twardej (13520,9  $\mu\text{g}$ ).

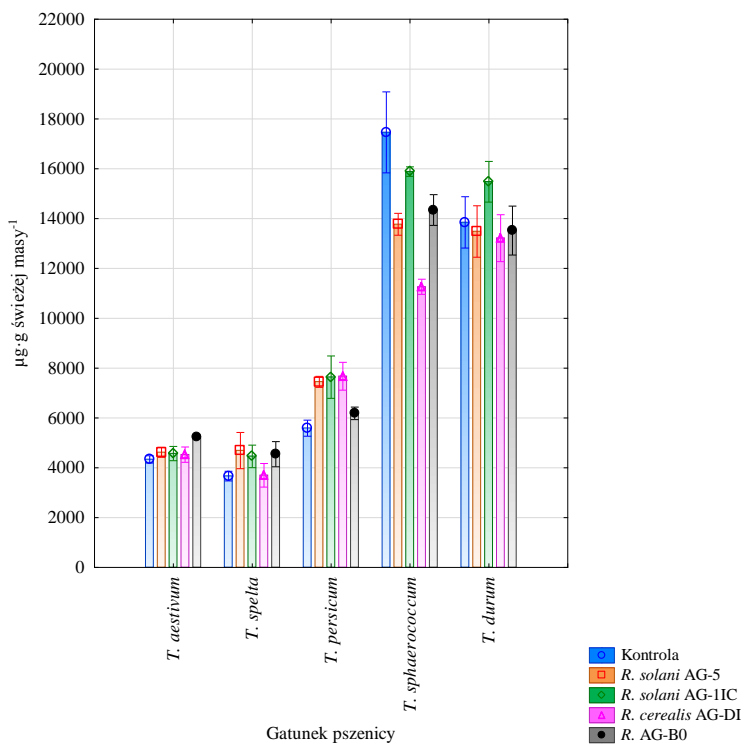
Inokulacja różnymi izolatami *Rhizoctonia* nie różnicowała zawartości wolnych cukrów u trzech gatunków pszenic, tj. pszenicy zwyczajnej, twardej oraz orkisz. W przypadku pszenicy perskiej najwięcej cukrów stwierdzono po inokulacji *R. cerealis* AG-DI (7675,4  $\mu\text{g}$ ) a najmniej przy braku inokulacji (5592,7  $\mu\text{g}$ ). Z kolei pszenica okrągłoziałowa charakteryzowała się największą zawartością wolnych cukrów w tkankach roślin kontrolnych (17461,8  $\mu\text{g}$ ), najmniej było ich, gdy wykonano inokulację grzybem *R. cerealis* AG-DI (11263,4  $\mu\text{g}$ ).

Tabela 19. Zawartość wolnych cukrów [ $\mu\text{g} \cdot \text{g}$  świeżej masy<sup>-1</sup>] w tkance roślin wybranych gatunków pszenic w zależności od genotypu *Rhizoctonia*

Genotyp <i>Rhizoctonia</i>	Gatunek pszenicy					Średnia
	<i>T. aestivum</i>	<i>T. spelta</i>	<i>T. persicum</i>	<i>T. sphaerococcum</i>	<i>T. durum</i>	
Kontrola	4338,8 a AB	3667,2 a A	5592,7 a B	17461,8 b C	13847,9 a C	8981,7 ab
<i>R. solani</i> AG-5	4621,2 a A	4693,1 a A	7450,1 ab B	13773,0 ab C	13485,8 a C	8804,6 ab
<i>R. solani</i> AG-IIC	4572,0 a A	4458,0 a A	7636,7 ab B	15889,2 ab C	15478,9 a C	9607,0 b
<i>R. cerealis</i> AG-DI	4529,1 a A	3700,7 a A	7675,4 b B	11263,4 a C	13214,0 a C	8076,5 a
<i>Rhizoctonia</i> sp. AG-B0	5246,2 b AB	4545,9 a A	6185,0 ab B	14345,2 ab C	13520,9 a C	8768,6 ab
Średnia	4661,4 A	4213,0 A	6908,0 B	14546,5 C	13909,5 C	8847,7
Istotność efektu: genotyp <i>Rhizoctonia</i> (R) - <sup>2</sup> ; gatunek pszenicy(G) - ***; interakcja R×G - ***						

<sup>1</sup> Wartości oznaczone tymi samymi literami, małymi w kolumnach i wielkimi w wierszach, nie różnią się istotnie przy poziomie istotności  $\alpha=0,05$

<sup>2</sup> Poziom istotności efektu \*\*\* 0,001; \*\* 0,01; \* 0,05



Rys. 27. Zawartość wolnych cukrów w tkance roślin różnych gatunków pszenic [ $\mu\text{g} \cdot \text{g}$  świeżej masy $^{-1}$ ] w zależności od genotypu *Rhizoctonia*

## 5.8. Analiza składowych głównych (PCA)

Jedenaście zmiennych dla genotypów pszenicy uwzględniono w wielowymiarowej analizie składowych głównych (ang. principal component analysis, PCA). Zmiennym nadano symbole od  $x_1$  do  $x_{11}$  według następującej kolejności:

$X_1$  - CHI/gŚM

$X_2$  - CHI/mg

$X_3$  - GLU/gŚM

$X_4$  - GLU/mg

$X_5$  - SOD/gŚM

$X_6$  - SOD/mg

$X_7$  - wolne cukry/gŚM

$X_8$  - indeks chorobowy (DI)

$X_9$  - średni stopień porażenia

$X_{10}$  - g/biomasa na roślinę

$X_{11}$  - g/biomasa całkowita



W przeprowadzonej wielowymiarowej analizie składowych głównych dodatnie wartości ładunków świadczyły o tym, że im większe natężenie cech tym większą rolę miał ich udział w składowej. Z kolei im wartość ładunku była mniejsza tym mniejsza jego rola w składowej. Długość wektora odpowiada wartości ładunku (min. 0,0; max. 1,0) a znak na skali (od -1 do +1) kierunkowi zależności. Im dalej dana zmienna położona jest od środka koła tym lepiej jest reprezentowana przez widoczny układ czynników. Jednocześnie położenie dwóch wektorów w przeciwległych polach świadczy o odwrotnych zależnościach dla tych cech, natomiast im wektory są bardziej równoległe do siebie, tym większe ich podobieństwo w kształtowaniu się składowej.

PCA dla *R. cerealis* AG-DI wykazała, że pierwsza składowa, która wygenerowała 50,81% całkowitej wariancji, ma następujące ładunki dla poszczególnych cech:

$$Z_1 = -0,82 X_1 - 0,80 X_2 + 0,89 X_3 + 0,80 X_4 - 0,23 X_5 - 0,77 X_6 - 0,70 X_7 + 0,80 X_8 + 0,80 X_9 - 0,43 X_{10} - 0,52 X_{11}$$

Składowa  $Z_1$  (Czynnik 1) odpowiada w sposób dodatni za całkowitą aktywność glukanaz w tkankach roślin, specyficzną aktywność glukanaz, wartość indeksu chorobowego oraz średni stopień porażenia (rys. 28). Ujemnie natomiast za całkowitą aktywność chitynaz, specyficzną aktywność chitynaz oraz specyficzną aktywność dysmutazy ponadtlenkowej. Wynika z tego, iż składowa  $Z_1$  dla *R. cerealis* AG-DI odpowiada za aktywność enzymów z klasy hydrolaz, mających bezpośrednie działanie na ścianę komórkową patogena. Dodatkowo jest istotnie powiązana ze stopniem porażenia roślin. Co istotne, wektory dla aktywności enzymów chitynolitycznych znajdują się po przeciwległych stronach. Średni stopień porażenia jak i indeks chorobowy są dodatnio powiązane z aktywnością glukanaz (zarówno całkowitą jak i specyficzną), ujemnie z aktywnością chitynaz (całkowitą i specyficzną) oraz aktywnością specyficzną dysmutazy ponadtlenkowej. Dodatkowo można zaobserwować umiarkowane powiązanie z zawartością wolnych cukrów w tkance (0,70).

Druga składowa, która wykazała 32,6% wariancji, ma następujące ładunki:

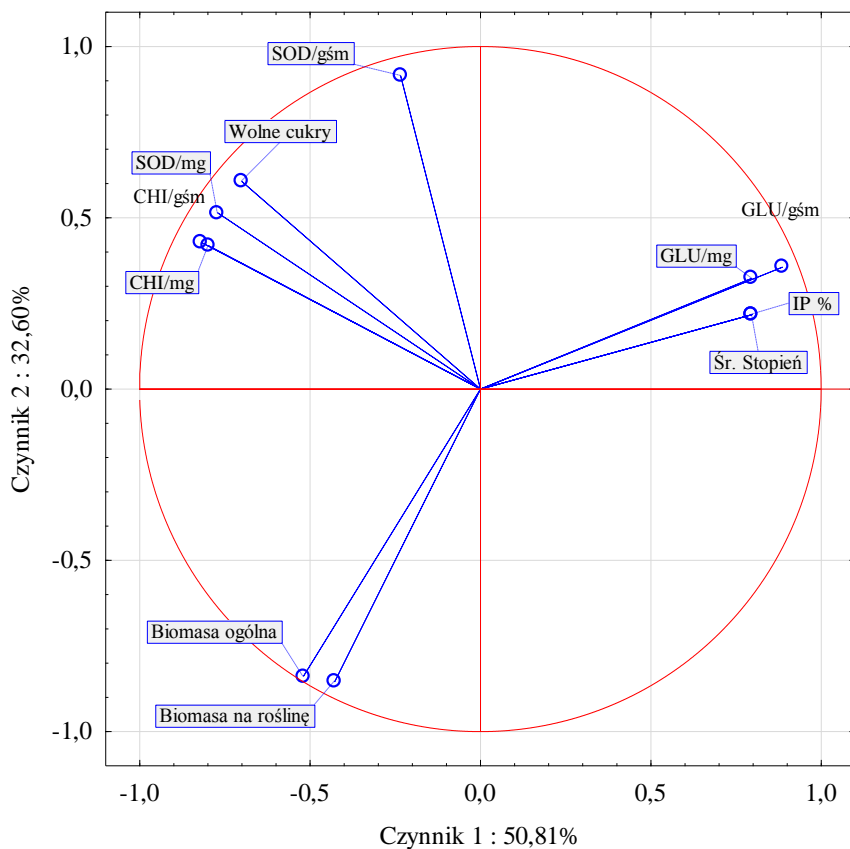
$$Z_2 = 0,43 X_1 + 0,42 X_2 + 0,36 X_3 + 0,32 X_4 + 0,91 X_5 + 0,51 X_6 + 0,61 X_7 + 0,22 X_8 + 0,22 X_9 - 0,85 X_{10} - 0,84 X_{11}$$

Składowa  $Z_2$  (rys. 28) istotnie dodatnio powiązania jest z całkowitą aktywnością dysmutazy ponadtlenkowej w tkankach roślin, natomiast ujemnie z biomasą w przeliczeniu na pojedynczą roślinę oraz całkowitą otrzymaną biomasą. Natomiast umiarkowanie powiązane z aktywnością specyficzną

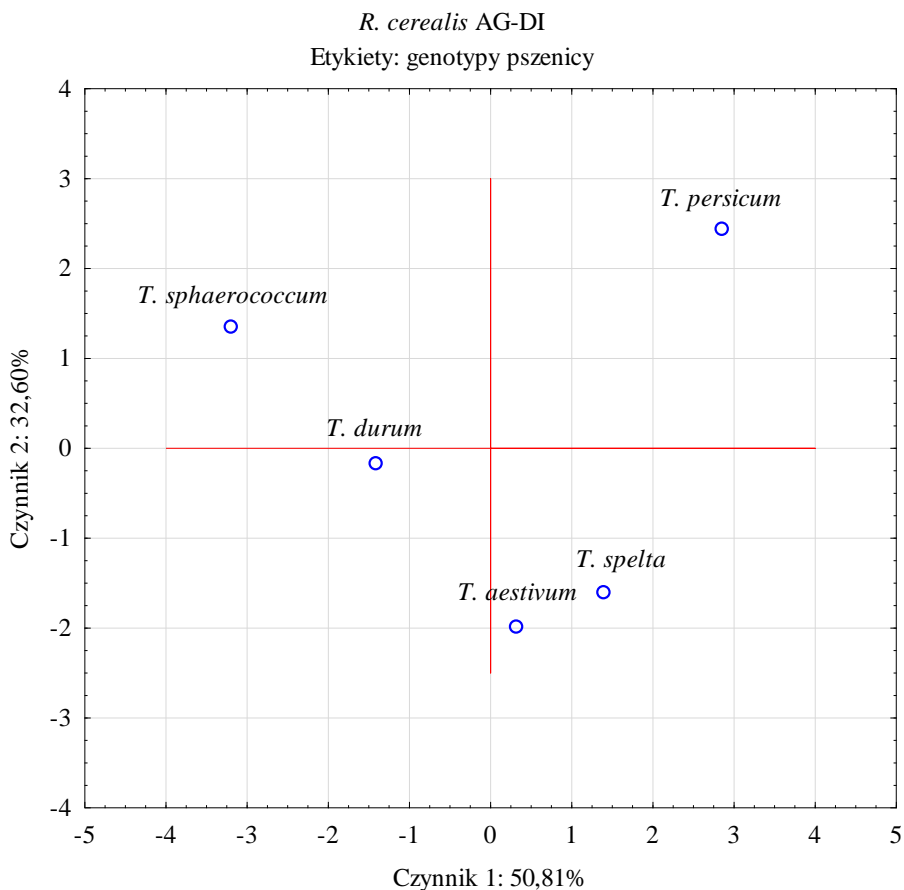
dysmutazy ponadtlenkowej (0,51) oraz zawartością wolnych cukrów (0,61). Należy przeanalizować znaczenie składowych dla cech oporności (wyrażanej pod postacią wartości indeksu chorobowego oraz średniego stopnia porażenia) wobec *R. cerealis*. Biorąc pod uwagę składową  $Z_1$  i wartości indeksów chorobowych oraz średniego stopnia porażenia roślin najmocniej powiązane są one dodatnio z wartością aktywności enzymów z klasy glukanaz, natomiast ujemnie z wartościami aktywności chitynaz, dysmutazy ponadtlenkowej oraz osiągalnej biomasy roślin. Z kolei składowa  $Z_2$  nie jest istotnie powiązana z cechą oporności (0,22 dla indeksu chorobowego oraz średniego stopnia porażenia), aczkolwiek jest silnie skorelowana z ogólną aktywnością dysmutazy ponadtlenkowej obserwowaną w tkankach roślin (0,91).

Obliczone współrzędne czynnikowe dla gatunków pszenic poddanych działaniu *R. cerealis* AG-DI wskazują największe dodatnie znaczenie składowej  $Z_1$  dla pszenicy perskiej oraz orkisz, natomiast ujemne znaczenie dla pszenicy twardej oraz pszenicy okrągłozarnowej (rys. 29). Znaczenie składowej  $Z_2$  okazało się największe dla pszenicy okrągłozarnowej oraz pszenicy perskiej, najmniejsze, ujemne znaczenie dla pszenicy orkisz oraz pszenicy zwyczajnej.

PCA dla *R. cerealis* AG-DI



Rys. 28. Projekcja cech gatunków pszenic na płaszczyźnie składowych głównych dla porażenia przez *R. cerealis* AG-DI



Rys. 29. Klasyfikacja wrażliwości gatunków pszenicy na porażenie przez *R. cerealis* AG-DI według składowych głównych

PCA dla *R. solani* AG-5 (rys. 30) wykazała, że pierwsza składowa  $Z_1$ , która wygenerowała 49,76% całkowitej wariancji, ma następujące ładunki dla poszczególnych cech:

$$Z_1 = 0,73 X_1 + 0,72 X_2 - 0,31 X_3 - 0,41 X_4 + 0,92 X_5 + 0,83 X_6 + 0,95 X_7 + 0,61 X_8 + 0,61 X_9 - 0,68 X_{10} - 0,70 X_{11}$$

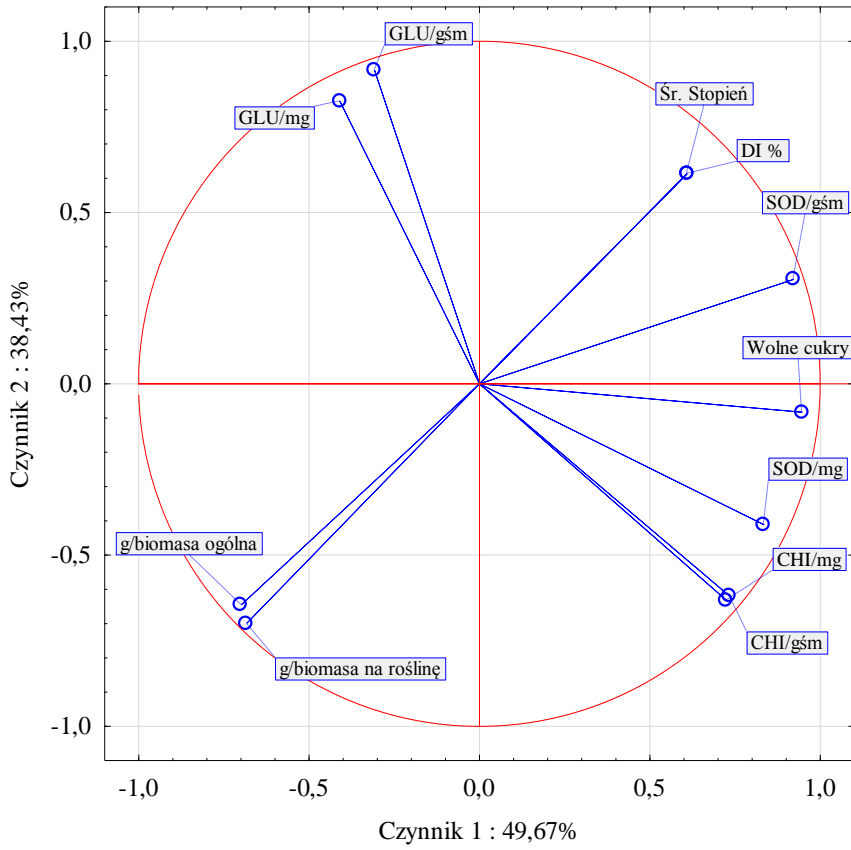
Składowa powiązana jest dodatnio z aktywnością chitynaz (całkowitą i specyficzną), aktywnością dysmutazy ponadtlencowej (całkowitą i specyficzną) oraz zawartością wolnych cukrów, umiarkowanie dodatnio z indeksem chorobowym (0,61) oraz średnim stopniem porażenia (0,61), natomiast umiarkowanie ujemnie z biomasą pojedynczej rośliny (-0,68) jak i całkowitą uzyskaną biomasą (-0,70).

Druga składowa  $Z_2$  (rys. 30), która wykazała 38,43% wariacji, ma następujące ładunki:

$$Z_2 = -0,62 X_1 - 0,63 X_2 + \mathbf{0,91} X_3 + \mathbf{0,82} X_4 + 0,30 X_5 - 0,41 X_6 - 0,08 X_7 + 0,61 X_8 + 0,61 X_9 - 0,70 X_{10} - 0,65 X_{11}$$

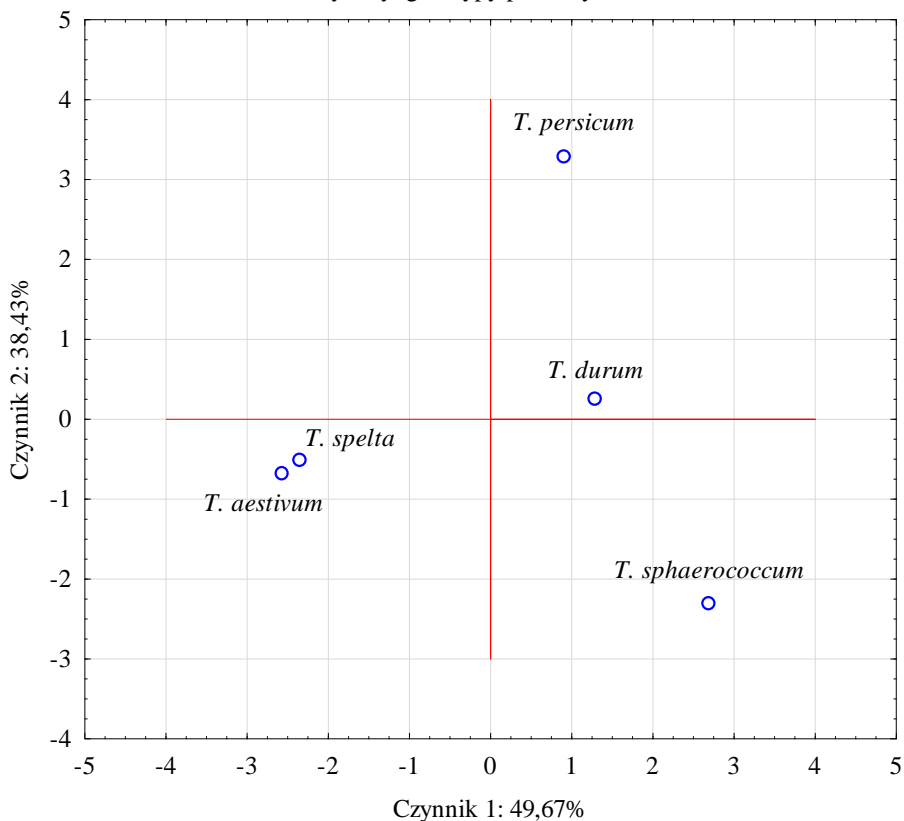
Składowa powiązana jest dodatnio z całkowitą aktywnością i specyficzną glukanaż oraz umiarkowanie dodatnio z indeksem chorobowym (0,61), średnim stopniem porażenia (0,61), natomiast umiarkowanie ujemnie z biomasą pojedynczej rośliny (-0,68), jak i całkowitą uzyskaną biomasą (-0,70). Ponownie należy się przyjrzeć jakie znaczenie mają składowe dla cech oporności roślin względem *R. solani* AG-5. Zaobserwowano, iż zarówno składowa  $Z_1$  jak i  $Z_2$  wykazują zbliżone powiązanie z cechą oporności na badane patogeny, aczkolwiek jest ono na umiarkowanym poziomie. Biorąc pod uwagę kierunek ładunków dla składowej  $Z_1$  cechy oporności są najbardziej dodatnio związane z aktywnością ogólną dysmutazy ponadtlenkowej oraz ujemnie z osiąganą biomasą roślin. Obliczone współrzędne czynnikowe dla gatunków pszenicy poddanych działaniu *R. solani* AG-5 (rys. 31) wskazują największe dodatnie znaczenie składowej  $Z_1$  dla pszenicy okrągłozłazowej oraz pszenicy twardej, natomiast ujemne znaczenie dla pszenicy orkisz oraz pszenicy zwyczajnej. Z kolei znaczenie składowej drugiej było największe dla gatunku pszenicy perskiej, natomiast najmniejsze dla pszenicy zwyczajnej oraz pszenicy okrągłozłazowej.

PCA dla *R. solani* AG-5



Rys. 30. Projekcja cech gatunków pszenic na płaszczyznę składowych głównych dla *R. solani* AG-5

*R. solani* AG-5  
Etykiety: genotypy pszenicy



Rys. 31. Klasyfikacja genotypów pszenicy dla inokulacji *R. solani* AG-5 według składowych głównych

PCA dla *R. solani* AG-11C (rys. 32) wykazała, że pierwsza składowa  $Z_1$ , która wygenerowała 49,98% całkowitej wariancji, ma następujące ładunki dla poszczególnych cech:

$$Z_1 = 0,54 X_1 + 0,49 X_2 + 0,23 X_3 - 0,07 X_4 + \mathbf{0,84} X_5 - 0,10 X_6 + \mathbf{0,81} X_7 + \mathbf{0,92} X_8 + \mathbf{0,92} X_9 - \mathbf{0,95} X_{10} - \mathbf{0,97} X_{11}$$

Pierwsza składowa ( $Z_1$ ) powiązana jest dodatnio z całkowitą aktywnością dysmutazy ponadtlenkowej, zawartością wolnych cukrów, indeksem chorobowym oraz średnim stopniem porażenia, natomiast ujemnie powiązana z biomasa pojedynczej rośliny oraz całkowitą otrzymaną biomasa.

Druga składowa  $Z_2$ , która wykazała 34,56% wariancji, ma następujące ładunki:

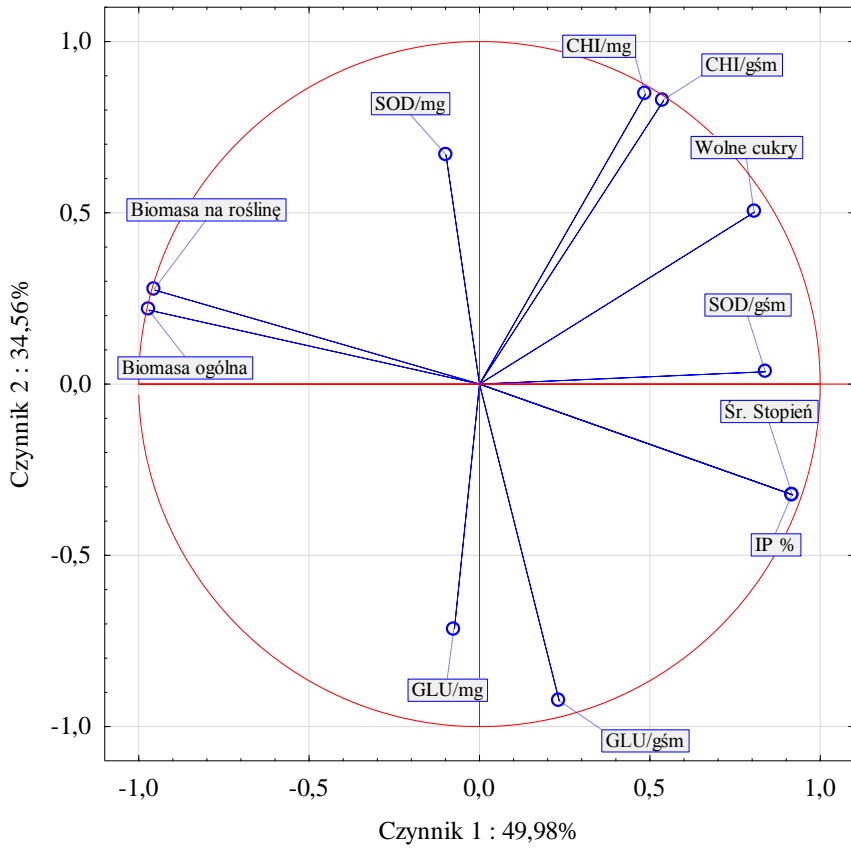
$$Z_2 = 0,83 X_1 + 0,85 X_2 - 0,92 X_3 - 0,72 X_4 + 0,04 X_5 + 0,67 X_6 + 0,50 X_7 - 0,32 X_8 - 0,32 X_9 + 0,27 X_{10} - 0,22 X_{11}$$

Składowa  $Z_2$  powiązana jest dodatnio z całkowitą oraz specyficzną aktywnością chitynaz oraz ujemnie powiązana z całkowitą i specyficzną aktywnością glukanz.

Analizując znaczenie składowych dla cech oporności roślin względem *R. solani* AG-11C, zaobserwowano, iż cechy oporności na płaszczyźnie składowej  $Z_1$  najmocniej powiązane dodatnio są z ogólną aktywnością dysmutazy ponadtlenkowej oraz ujemnie z osiąganą biomasa roślin (rys. 32). Rozpatrując znaczenie poszczególnych składowych zaobserwowano, że składowa  $Z_1$  miała największe znaczenie dla gatunków pszenicy perskiej, pszenicy okrągłoziarnej oraz pszenicy twardej, najmniejsze natomiast dla pszenicy zwyczajnej. Z kolei znaczenie dla składowej  $Z_2$  było największe dla pszenicy okrągłoziarnej, a najmniejsze dla pszenicy perskiej (rys. 33).

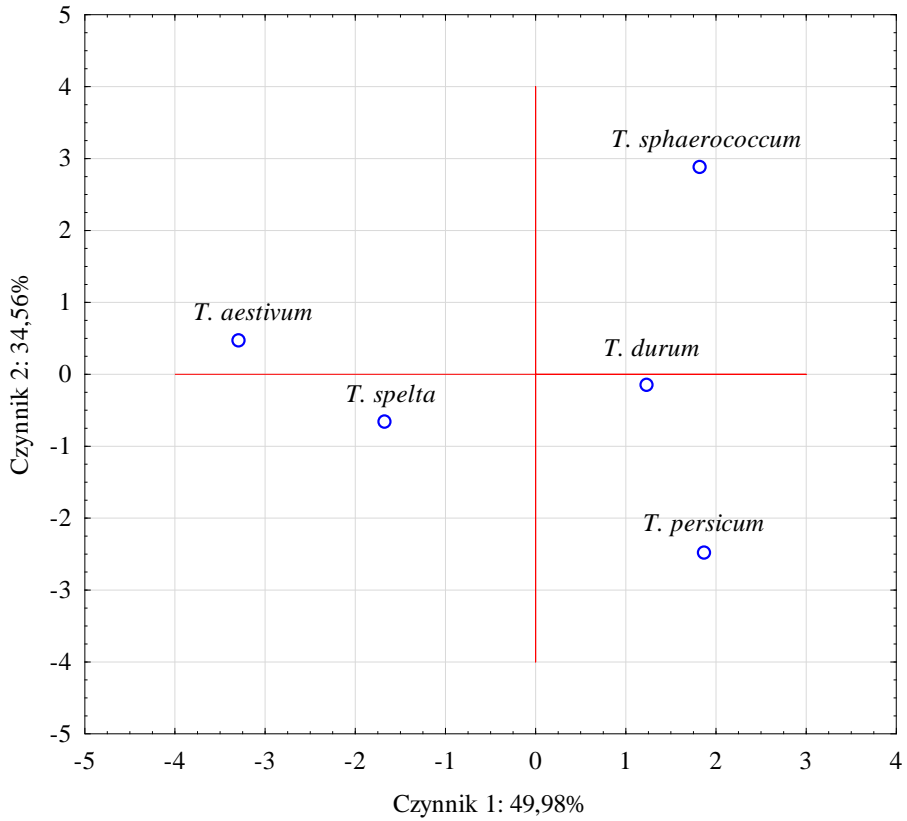


PCA dla *R. solani* AG-1IC



Rys. 32. Projektcja cech gatunków pszenice na płaszczyznę składowych głównych dla *R. solani* AG-1IC

*R. solani* AG-IIC  
Etykiety: genotypy pszenicy



Rys. 33. Klasyfikacja genotypów pszenicy dla inokulacji *R. solani* AG-IIC według składowych głównych

## 6. DYSKUSJA

Rośliny w toku ewolucji wypracowały złożone mechanizmy obrony przeciwko patogenom. Z kolei wprowadzenie przez człowieka do uprawy roślin o charakterze pokarmowym zmusiło do świadomego ich udoskonalania pod względem wybranych cech, w tym oporności lub bardziej pożądanej odporności na agrofagi. Wszystko po to by zapewnić pożywienie powiększającej się populacji ludzkiej oraz aby nie dopuścić do ponownej sytuacji jaka miała miejsce w latach 1845–1849 w Irlandii, kiedy *Phytophthora infestans* niszczył uprawy ziemniaka skazując na klęskę głodu miliony ludzi (Grunwald i Flier 2005, Fry 2008). Dlatego tak istotnym jest szukanie cech oporności w roślinach i włączanie ich w genotyp nowych odmian roślin uprawnych w ramach postępu biologicznego.

Cecha odporności często związana jest z kilkoma czynnikami występującymi po sobie, a nawet jednocześnie nakładających się na siebie. Mniej lub bardziej intensywne mechanizmy reakcji na patogeny niejednokrotnie decydują o przeżyciu roślin. Arsenal możliwości obronnych roślin jest poznany tylko częściowo, aczkolwiek już ta częściowa wiedza może okazać się przydatna w doborze materiału genetycznego w procesach hodowlanych, tak aby wykazywał pożądane cechy. Dzięki temu możliwe jest otrzymanie takiego genotypu, który posiada zestaw pożądanych cech. Aczkolwiek uzyskanie takiego genotypu rośliny, który potrafi oprzeć się działaniu patogenów jest procesem wymagającym dużego nakładu pracy, czasu i funduszy. Dodatkowo otrzymanie materiału genetycznego o pożądanych cechach nie oznacza wygranej wojny z patogenami, gdyż w procesach ewolucyjnych, patogeny z czasem dostosują się i przełamują możliwości obronne roślin (Lagudah i in. 2009). Możliwości te mogą być wyrażane w różny sposób. Wszystko to przekłada się na zdolność rośliny do długotrwałego opierania się stresowi o podłożu biotycznym. Trwałe uzyskanie cech oporności czy bardziej poszukiwanej odporności jest zadaniem trudnym. Samo występowanie takiej cechy lub zespołu cech może być reprezentowane przez ułamek znanych (tj. scharakteryzowanych) genotypów roślin. Poszukiwanie cech obniżonej podatności wśród roślin tego samego gatunku, a nawet z rodzaju, wiąże się z wieloma wyzwaniem. Ponadto fakt znalezienia potencjalnej cechy oporności nie jest jednoznaczny z możliwością jej transmisji w procesach hodowlanych do rośliny docelowej. Aczkolwiek poszukiwanie cech oporności i badanie reakcji w jaki sposób rośliny reagują na stresory jest elementem udoskonalania materiału biologicznego będącego produktem procesów hodowlanych i jest najlepszym sposobem ograniczania strat powodowanych przez patogeny (Bai i Shaner 2004).

Cromeley i in. (2005 i 2012) zaobserwowali, iż zaledwie ok. 17% badanych

genotypów pszenicy ozimej spośród badanych odmian wykazywało cechy odporności wobec *R. cerealis*. Dwie odmiany (Centaur i Regency) charakteryzowały się zauważalnie mniejszą podatnością na *R. cerealis* (poniżej 15% roślin) i wykazywało istotnie mniej objawów ostrej plamistości oczkowej w badaniach polowych. Z kolei według doniesień z roku 2012 ten sam zespół potwierdził, że spośród 16 testowanych odmian pszenicy zaledwie jedna (ponownie Regency) charakteryzowała się małą podatnością na *Rhizoctonia* w testach polowych. Zostało to potwierdzone w późniejszych badaniach szklarniowych. Co istotne w badaniach polowych zaobserwowano, że w dużej mierze na występowanie ostrej plamistości oczkowej miała wpływ data siewu, gdyż rośliny z siewu wykonanego wczesną jesienią charakteryzowały się większym stopniem porażenia od tych wysianych w okresie późnej jesieni. Również Lemańczyk (2012) w swoich badaniach nad występowaniem ostrej plamistości oczkowej w uprawach pszenżyta ozimego zaobserwował zróżnicowanie występowania objawów wśród badanych odmian. Stwierdził, iż żadna z przebadanych odmian nie była oporna na działanie grzybów z rodzaju *Rhizoctonia*. Ponadto w wyniku przeprowadzonych badań zauważył, iż pewne odmiany pszenżyta charakteryzowały się podobną reakcją na *R. cerealis* jak i na *R. solani*. Dla przykładu odmiany Baltico i Zorro charakteryzowały się porównywalną, niską podatnością na *Rhizoctonia*. Zaobserwowano korelację pomiędzy porażeniem powodowanym przez *R. cerealis* i *R. solani* na koleoptylu a porażeniem liści. Podobnie w badaniach własnych zaobserwowano umiarkowanie silną korelację pomiędzy występowaniem objawów chorobowych na podstawie pędu i liściach u roślin pszenicy wystawionych na działanie *R. cerealis* AG-DI. Nie zaobserwowano natomiast podobnej korelacji dla roślin poddanych działaniu *R. solani* AG-5.

Lemańczyk i Kwaśna (2013) przebadali odmiany pszenicy ozimej pod względem występowania *R. cerealis* na polach produkcyjnych centralnej Polski. Zaobserwowano, iż objawy ostrej plamistości oczkowej widoczne były na podstawie pędu u 41% do blisko 70% roślin badanych, w zależności od stanowiska. Ponadto zaobserwowano, iż jedynie silne porażenie roślin skutkowało istotnym obniżeniem plonu jak i jego parametrów jakościowych. Pomimo spadku jakości ziarna pod względem wartości konsumpcyjnych nie zaobserwowano, aby działanie patogena prowadziło do obniżenia cech biologicznych ziarniaków w kontekście zdolności do kiełkowania.

W badaniach poletkowych stwierdzono zróżnicowane nasilenie występowania ostrej plamistości oczkowej wśród badanych odmian pszenicy. Wyodrębniono odmiany cechujące się brakiem jakichkolwiek zmian chorobowych. W przypadku 17,31% badanych roślin nie obserwowano jakichkolwiek zmian chorobowych w kombinacjach inokulowanych *R. cerealis* oraz 18,6% dla wariantu z *R. solani*. Oznacza to, że blisko 20% badanych

odmian mogło wykazywać potencjalne cechy odporności względem badanych patogenów.

Grupowanie hierarchiczne podatności genotypów pszenicy na patogeny pozwoliło na przyporządkowanie względem trzech różnych grup. Zaobserwowano, że najmniej podatne rośliny znajdowały się w grupie 2, która zlokalizowana była dodatkowo względem pierwszego wymiaru (39,5% wariancji). Co istotne grupę stanowiło 65 odmian pszenicy i jednocześnie była największą pod względem liczności grupą genotypów. Aczkolwiek należy nadmienić, iż żaden z badanych genotypów nie był w pełni odporny na patogeny. Najbardziej podane były natomiast rośliny grupy nr 3 o ujemnej lokalizacji względem wymiaru 1.

W badaniach laboratoryjnych na podstawie przeprowadzonych testów bibułowych nie udało się wyodrębnić odmian pszenic w pełni odpornych na porażenie przez *R. cerealis* jak i *R. solani*, gdyż żaden z badanych genotypów nie charakteryzował się brakiem objawów chorobowych. Testowane patogeny różniły się preferencjami co do miejsca infekcji. *R. cerealis* (AG-DI) powodował silniejsze uszkodzenia podstawy pędu oraz liści, natomiast *R. solani* (AG-5) powodował silne porażenie korzeni oraz umiarkowanie silne porażenie podstawy pędu. Dla blisko 40% badanych odmian pszenicy rozwijało się słabe porażenie korzeni (DI 0–10%) w przypadku ekspozycji na *R. solani* AG-5. Jednocześnie w podanym zakresie indeksu chorobowego, *R. cerealis* AG-DI powodował objawy chorobowe na korzeniach u zaledwie 1,6% badanych odmian pszenicy. Ponadto *R. cerealis* powodował silne porażenie podstawy pędu, w zakresie DI 70–80%, które wykazano dla 51,2% odmian oraz DI 80–90% - 30,4% badanych odmian, można uznać za bardzo silne porażenie, często skutkujące obniżeniem plonowania oraz spadkiem parametrów jakościowych ziarna (Lemańczyk i Kwaśna 2013). Zaobserwowano również, że *R. cerealis* w ogólnym kontekście testów laboratoryjnych, był bardziej zjadliwy dla roślin w odróżnieniu od *R. solani*. Wykorzystanie metody klasyfikacji poprzez grupowanie hierarchiczne K-średnich w ujęciu dwuwymiarowym umożliwiło podział badanych genotypów na trzy grupy o zróżnicowanej cesze odporności. Dwuwymiarowa analiza wykazała wariancję wymiaru 1 na poziomie 40,7% oraz 20,2% dla drugiego. Rozpatrując występowanie cechy odporności można było zaobserwować, że wchodziła ona w skład wymiaru nr 1. Wynika to m.in. z faktu rozłożenia wszystkich badanych grup roślin na przestrzeni omawianego wymiaru. Mianowicie najmniej podatne odmiany wykazywały dodatnie rozłożenie dla tego wymiaru, natomiast najbardziej podatne – ujemne. Co istotne, zaobserwowano, że większość badanych odmian wykazywała umiarkowaną podatność na oba patogeny (klaster nr 3 - 67 badanych odmian), tym samym wykazywał scentralizowany charakter w ujęciu obu wymiarów. w przypadku roślin podatnych na patogeny - grupa nr 2 wykazywała ujemne

rozłożenie względem 1. wymiaru. Grupę stanowiło 29 badanych odmian wykazujących silne porażenie w ekspozycji na *R. cerealis* AG-DI oraz *R. solani* AG-5. Najistotniejszą grupę stanowiły rośliny klastru nr 1 o dodatnim rozłożeniu dla wymiaru 1. Grupa ta zawierała rośliny o najmniejszej podatności na badane patogeny. Wykonana analiza skupień wykazała podobny rozkład cechy podatności na oba patogeny wśród badanych genotypów roślin. Uzyskany rozkład badanej cechy wskazywał na występowanie cech odporności na oba patogeny w badanej populacji, aczkolwiek większość badanych genotypów wykazywała umiarkowaną podatność na *Rhizoctonia*.

Badania Płonki i Roj (2012) nad podatnością odmian pszenicy również wskazywały na zróżnicowanie podatności roślin na *R. cerealis* i *R. solani*. w badaniach także nie zaobserwowali, aby którykolwiek z badanych genotypów był w pełni odporny na działanie patogenów. Zaobserwowali natomiast, iż tylko jedna z badanych odmian charakteryzowała się zbliżoną podatnością na oba patogeny (odmiana Buteo). Co więcej, stwierdzili, że *R. cerealis* powodował większe nasilenie zmian chorobowych (tj. większą wartość indeksu chorobowego) wśród badanych roślin, jak również większość roślin wykazywała zmiany chorobowe, w porównaniu do roślin inokulowanych *R. solani*.

W wazonowych badaniach własnych stwierdzono, że w przypadku infekcji powodowanej przez *R. solani* AG-5 oraz *R. cerealis* AG-DI tylko jeden genotyp (pszenica zwyczajna) charakteryzował się istotnie mniejszą podatnością na oba patogeny, sugerując występowanie równoległych cech odporności. Aczkolwiek pszenica twarda jak i pszenica okrągłozłazowa wykazywały niską podatność na *R. cerealis* AG-DI, przy jednoczesnym wysokim porażeniu przez oba izolaty *R. solani*, co może przeczyć występowaniu równoległych cech odporności.

Podłoże skutecznego ograniczania szkód jakie powodują patogeny z rodzaju *Rhizoctonia* w roślinie nie jest do końca poznane. Wskazuje się występowanie synergii wielu różnych mechanizmów, jakimi dysponują rośliny, które pozwalają na skuteczną obronę. Mechanizmy zwalczania bezpośredniego, w skład których wchodzi takie białka jak chitynazy czy glukanzazy, wskazywane są przez wielu autorów jako te mające istotne znaczenie przy bezpośrednim hamowaniu rozwoju patogena, jak również w pobudzaniu innych procesów obronnych wewnątrz rośliny. Indukcja enzymów chitynolitycznych w pierwszych godzinach czy dniach trwania patogenezы może mieć kluczowe znaczenie w skutecznej obronie. Badania własne wskazują, iż rośliny wykazujące wyższe wartości aktywności chitynaz i glukanzaz lepiej ograniczały skutki działalności patogenów. Rybka i in. (1998) dowodzą, że aktywność chitynolityczna może mieć kluczowe znaczenie w niespecyficznej reakcji roślin pszenicy na patogeny. Zaobserwowali, że poziom aktywności wybranych defensyn rósł nieprzerwanie do 4 dni po inokulacji patogenem. Z kolei Tyagi

i in. (2001) wskazują na synergiczne działanie obu enzymów, tj. chitynaz i  $\beta$ -1,3-glukanaz, w ograniczaniu *Alternaria triticina* w uprawach pszenicy zwyczajnej. Radjacommare i in. (2004) zaobserwowali silną korelację pomiędzy wysoką aktywnością chitynaz w tkankach ryżu a obniżoną podatnością na *R. solani*. Informacje te potwierdzają badania własne, gdyż pszenica twarda cv. Karmadur, wykazywała wysoką aktywnością obu defensyn, cechowała się istotnie mniejszym udziałem porażonych roślin w badaniach laboratoryjnych. Podobną zależność zaobserwowano dla roślin pszenicy okrągłozłazkowej, aczkolwiek charakteryzowały się one mniejszą aktywnością  $\beta$ -1,3-glukanaz. Z kolei pszenica zwyczajna cechowała się umiarkowanie wysoką aktywnością badanych defensyn, natomiast osiągała największą biomasa oraz najniższe wartości indeksu chorobowego. Do podobnych wniosków doszli Jung i in. (2007) pobudzając rośliny soi szczepem *Pseudomonas* sp. przed późniejszym traktowaniem *R. solani*. Tak potraktowane rośliny wykazywały blisko 50% większą aktywność  $\beta$ -1,3-glukanaz oraz indukowały ekspresję pięciu różnych izoform tego enzymu, co w rezultacie przekładało się na hamowanie rozwoju patogena w porównaniu do roślin kontrolnych. Z kolei Shrestha i in. (2007) w badaniach genotypów ryżu zaobserwowali, że rośliny, które szybciej uruchamiały aparat chitynolityczny (w postaci aktywności chitynaz) lepiej sobie radziły z *R. solani*.

Sridevi i in. (2008) dowodzą, iż transformowane rośliny ryżu wykazujące wysoką konstytutywną zawartość chitynaz i glukanaz oraz posiadające zdolność do nadekspresji genów kodujących wybrane defensyny podczas ekspozycji na *R. solani* były w stanie skutecznie zahamować rozwój choroby. Huang i in. (2013) również dowiedli, że nadekspresja genów kodujących chitynazy w transgenicznym roślinach pszenicy, lepiej radziły sobie z biotoficznymi patogenami z rodzaju *Puccinia*. Badania Solanki i in. (2019) również dowodzą, że pobudzenie produkcji roślinnych defensyn poprzez ko-inokulację roślin szczepami rodzajów *Streptomyces* oraz *Trichoderma* doprowadziło do skutecznego zahamowania rozwoju *R. solani* na roślinach pomidora. Zaobserwowano, iż wysoka aktywność  $\beta$ -1,3-glukanaz, chitynaz oraz innych defensyn znacząco zahamowała rozwój patogena. Z kolei Bernardo i in. (2007) wskazują na rolę szybkiej ekspresji genów kodujących hydrolazy w odpowiedzi na patogeny z rodzaju *Fusarium*. Zaobserwowali, że genotypy charakteryzujące się opornością na działanie patogenów były w stanie szybciej doprowadzić do ekspresji kluczowych genów w porównaniu do roślin podatnych. W zaledwie 12 godzin po inokulacji stwierdzono wielokrotnie większe ilości kopii genów kodujących prekursor chitynazy.

Hura i in. (2015) dowiedli, że genotypy rzepaku odporne na działanie *Leptosphaeria maculans* charakteryzowały się istotnie większą aktywnością glukanaz w porównaniu do roślin podatnych. Co więcej rośliny podatne

wykazywały tendencję spadkową w aktywności enzymów pomiędzy 7 a 14. dniem od inokulacji, gdzie rośliny odporne wykazywały ustawiczny wzrost aktywności glukanaz. Co istotne badania Maglovski i in. (2017) wskazują na istotną rolę dostępności związków pokarmowych a aktywnością chitynaz i glukanaz. Zaobserwowali, że wraz z dostępnością związków azotu rośnie aktywność enzymów z grupy chitynaz, natomiast spada aktywność glukanaz. Co więcej, najwyższą aktywność glukanaz obserwowali u roślin bez suplementacji i bez dostępu do związków pokarmowych. Jest to istotne biorąc pod uwagę stan ciągłej ekspozycji roślin na stresor o charakterze biotycznym, gdyż rozwijający się patogen pobiera związki pokarmowe od rośliny gospodarza. Może się to przyczynić do zagłodzenia rośliny i w efekcie jej śmierci. Można przypuszczać, iż rośliny mogą w sposób niezakłócony pobierać związki pokarmowe i będąc w lepszej kondycji są w stanie efektywniej pobudzać mechanizmy obronne w postaci enzymów klasy chitynaz wewnątrz ustroju. Natomiast w przypadku glukanaz można przypuszczać, że aktywność i wysokie stężenie enzymu może być związane nie tylko z bezpośrednim zwalczaniem patogenów, ale również z mechanizmem wzmacniania ściany komórkowej poprzez uwalnianie prekursorów celulozy w miejscach infekcji. Potwierdzałoby to aktywność glukanaz wewnątrz tkanek roślin pszenicy perskiej, które charakteryzowały się istotnie wyższą aktywnością  $\beta$ -1,3-glukanaz oraz niską aktywnością chitynaz dla wszystkich wariantów inokulacyjnych. Jednocześnie rośliny poddane działaniu patogenów cechowały się niskimi przyrostami oraz mniejszą biomasą.

Niektórzy naukowcy wskazują, iż cechy oporności na wybrane patogeny mogą mieć swoje podłoże w reakcjach katalizowanych przez oksydoreduktazy jak peroksydazy (gwaszokolowa - GPOX, askorbinianowa - APX etc.), katalaza (CAT), dysmutaza ponadtlenkowa (SOD) i wiele innych. Enzymy te poprzez swoje działanie mogą regulować warunki wewnątrz komórek i tkanek. Zarówno poprzez regulowanie i utrzymywanie wewnętrznej homeostazy redoks czy homeostazy energetycznej, jak również swój udział w procesach programowanej śmierci komórek w miejscach wniknięcia patogena. Urbanek i in. (1996) obserwowali intensyfikację aktywności dysmutazy ponadtlenkowej w liściach fasoli infekowanej przez patogeny *Botrytis fabae* oraz *B. cinerea*. Co istotne stwierdzili, iż inokulacja roślin patogenem kompatybilnym (*B. fabae*) powodowała wielokrotnie silniejszą reakcję roślin na patogena, pod postacią aktywności SOD oraz GPOX. Able (2003) w swoich badaniach nad relacją pomiędzy genotypami jęczmienia a nekrotroficznymi patogenami *Rhynchosporium secalis* oraz *Pyrenophora teres* zaobserwowała między innymi wczesną indukcję procesów produkcji RFT (głównie  $\text{HO}_2^{\cdot}/\text{O}_2^{\cdot-}$ ) w tkankach roślin podatnych jak i niepodatnych na wybrane patogeny, aczkolwiek zawartość RFT rosła u roślin podatnych na oba patogeny z czasem trwania



infekcji. Obserwowała również mniejszą aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w ustroju roślin podatnych. W przypadku roślin niepodatnych odnotowała gwałtownie rosnącą aktywność SOD w odpowiedzi na traktowanie patogenami, trwającą do 72 godzin po inokulacji. W przypadku roślin podatnych wzrost aktywności był znacznie mniej dynamiczny, o bardziej liniowym postępie.

W toku przeprowadzonych badań własnych stwierdzono zróżnicowaną aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w tkankach roślin. W ujęciu całkowitej obserwowanej aktywności dysmutazy nie zaobserwowano istotnych różnic między analizowanymi genotypami, aczkolwiek najwyższą aktywnością całkowitą charakteryzowały się rośliny pszenicy perskiej, pszenicy okrągłozirnowej oraz pszenicy twardej. Jednocześnie najwyższą aktywnością specyficzną charakteryzowały się pszenica okrągłozirnowa. Co istotne genotypy roślin wykazujące wyższe aktywności kompleksu SOD w tkankach charakteryzowały się mniejszym nasileniem objawów porażeniem przez patogeny, zwłaszcza przez *R. solani* AG-5. Byłoby to potwierdzeniem badań Foley in. (2016), którzy w swoich badaniach nad interakcją pomiędzy dwoma genotypami pszenicy a *R. solani* wykazali istotną rolę reaktywnych form tlenu. w czasie trwania procesów infekcyjnych powodowanych przez *R. solani* obserwowano wysoki poziom ekspresji genów kodujących białka biorących udział w produkcji jak i regulacji zawartości reaktywnych form tlenu. Zbadano poziom syntezy wybranych RFT w kontekście inokulacji patogenem, gdzie również stwierdzono wysoką zawartość zarówno  $H_2O_2$  jak i  $O_2^-$  w odpowiedzi na patogena. Dodatkowo zaobserwowano, że w czasie trwania procesów infekcyjnych *R. solani* wykazywał wysoką ekspresję genów *TmpL* oraz *OAH* odpowiadających za produkcję i regulację reaktywnych form tlenu w komórkach grzyba. Tym samym przypuszcza się, że sekrecja RFT przez komórki patogena może być kluczowa dla skutecznej infekcji rośliny. Należy zaznaczyć, że wysoka zawartość wolnych, niezwiązanych cukrów w tkankach roślin jest m.in. związana z procesami towarzyszącymi stresowi oksydacyjnemu. Wysoka zawartość cukrów związana jest nie tylko z energetycznym zapotrzebowaniem komórek w czasie ekspozycji na stres, ale pełni też rolę molekuly sygnałowej, jak również odpowiada za regulowanie ekspresji wielu genów.

Sorahinobar i in. (2015) dowiedli istotną rolę produkcji  $H_2O_2$ , poziomu peroksydacji lipidów, jak również indukcji aktywności SOD, GPOX czy PPOX w genotypie pszenicy odpornej na *Fusarium graminearum*. Dodatkowo wyższa aktywność dysmutazy ponadtlenkowej utrzymywała się do 7. dnia po inokulacji u roślin odpornych. Khaledi i in. (2016) badając reakcję dwóch genotypów pszenicy (podatnej oraz odpornej) na działanie *Fusarium culmorum* oraz *F. graminearum* zaobserwowali, iż rośliny charakteryzujące się istotnie wyższą aktywnością między innymi enzymów z grupy SOD, CAT czy GPOX były

mniej podatne na działanie patogenów. Dodatkowo traktowanie roślin inhibitorami badanych enzymów przekładało się na mniejszą zawartość reaktywnych form tlenu w tkankach, co w efekcie powodowało postępujące zmiany chorobowe. Autorzy wskazują tym samym na istotę generowania RFT, m.in. poprzez aktywność kompleksu SOD, w zwalczaniu nekrotorficznych patogenów z rodzaju *Fusarium*. Diani i in. (2009) traktowali odporne i podatne na *Septoria tritici* odmiany pszenicy. Genotyp odporny na patogena wykazywał wielokrotnie wyższe wartości peroksydacji lipidów jak również aktywności peroksydaz oraz dysmutazy ponadtlenkowej, co równocześnie przekładało się na szybkie procesy apoptozy wokół miejsca infekcji. Natomiast genotypy charakteryzujące się podatnością na patogena wykazywały istotnie mniejszą aktywność badanych enzymów, jak również mniej dynamiczny przyrost aktywności w czasie. Dodatkowo nekrotyczne zmiany powiązane z programowaną śmiercią komórek zachodziły znacznie później jak te obserwowane u roślin odpornych. Co więcej, rośliny odporne charakteryzowały się dwuetapowym profilem aktywności SOD, tj. wysoką aktywnością do drugiego dnia po inokulacji i spadkiem w dniu czwartym oraz ponownym wzrostem od szóstego do dziesiątego dnia po inokulacji. Podobnego zjawiska nie obserwowano u roślin podatnych. Z kolei Asthir i in. (2011) zaobserwowali, że podatny na działanie *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* genotyp pszenicy charakteryzował się małą aktywnością SOD w tkankach. Zaobserwowano, iż zarówno formy izoenzymatyczne, jonowo oraz kowalencyjnie związane ze ścianą komórkową, charakteryzowały się słabą kinetyką reakcji w czasie trwania infekcji.

Zaobserwowano istotną rolę wolnych cukrów w procesach regulowania zawartości reaktywnych form tlenu w komórkach jako mechanizm przeciwdziałania negatywnym skutkom ich lawinowej syntezy w czasie trwania stresu oksydacyjnego. Wysoka zawartość cukrów związana jest nie tylko z energetycznym zapotrzebowaniem komórek w czasie ekspozycji na stres, ale pełni też rolę molekuly sygnałowej, jak również odpowiada za regulowanie ekspresji wielu genów (Couée i in. 2006, Foley i in. 2016, Ghosh i in. 2017). w badaniach własnych zaobserwowano pewną rozbieżność pomiędzy badanymi genotypami roślin w kontekście zawartości wolnych cukrów. Można zauważyć, że zarówno genotypy charakteryzujące się niską jak i wysoką zawartością badanego metabolitu mogły charakteryzować się niskim indeksem chorobowym czy średnim stopniem porażenia. Dla przykładu pszenica zwyczajna charakteryzowała się niską zawartością cukrów przy ekspozycji na patogeny i jednocześnie najniższym obserwowanym indeksem chorobowym. Można przypuszczać, że rośliny pszenicy zwyczajnej charakteryzującej się najmniejszą podatnością na badane patogeny były w stanie szybciej przezwyciężyć postępujący stres biotyczny ze strony patogenów i przywrócić homeostazę

energetyczną. Z drugiej strony rośliny pszenicy okrągłozłazowej oraz pszenicy twardej cechowała wysoka zawartość wolnych cukrów w tkankach przy jednocześnie umiarkowanym indeksie chorobowym. Należy również zaznaczyć, iż rośliny obu wymienionych genotypów cechowały najwyższe wartości całkowitej aktywności kompleksu SOD, co może być powiązane z wysokim zapotrzebowaniem energetycznym, utrzymaniem homeostazy redoks. Goicoechea i in. (2000) zaobserwowali podobne zjawisko u roślin papryki traktowanych *Verticillium dahliae*.

Rośliny poddane działaniu grzyba, w toku trwania procesów infekcyjnych charakteryzowały się tendencją do uwalniania wolnych cukrów do ustroju. Obserwowany trend skorelowany był jednocześnie z ubytkiem skrobi w tkankach badanych roślin, sugerując silne procesy rozkładu polimeru na potrzeby energetyczne komórek. Zakłada się również sygnałową rolę uwalnianych heksoz w czasie trwania patogenezy. Aczkolwiek Swarbrick i in. (2006) dowiedli, iż rośliny podatne na działanie *Blumeria graminis* charakteryzowały się wysoką akumulacją wolnych cukrów, m.in. heksoz oraz disacharydów w postaci sacharozy, w komórkach, z kolei rośliny odporne charakteryzowały się mniejszą zawartością wolnych cukrów, natomiast wyższą aktywnością apoplastycznej inwertazy. Mniejsza zawartość cukrów, jak i wyższa aktywność inwertazy ma bezpośrednie przełożenia na zdolności obronne komórek. Lepsza gospodarka energetyczna skorelowana była z procesami wzmacniania ściany komórkowej rośliny przeciw proliferacji komórek grzyba. Ponadto wysoka zawartość wolnych heksoz może być związana z procesami aktywowania ekspresji genów kodujących białka obronne. Ma i in. (2020) zaobserwowali natomiast, że genotypy ryżu podatne na działanie *R. solani* charakteryzowały się wysokim zapotrzebowaniem na związki energetyczne. Uzyskane profile ekspresji genów oraz identyfikacja produktu ekspresji genów pozwoliły na określenie modelu reakcji rośliny na badanego patogena. Zaobserwowali, że u roślin podatnych na patogena silnej ekspresji uległy m.in. geny kodujące białka regulujące procesy glikolizy oraz glikoneogenezy, czyli procesów bezpośrednio związanych ze szlakami pozyskiwania związków energetycznych w komórkach. Rośliny podatne charakteryzowały się wysokim zapotrzebowaniem na ATP w celu utrzymania reakcji obronnych. Nie obserwowali natomiast podobnej reakcji u roślin odpornych. Przypuszczać można, że rośliny uwalniają duże ilości heksoz by móc zaspokoić zapotrzebowanie komórek na energię, co jednocześnie przekłada się na ogólną reakcję obronną.

Yuan i in. (2018) poddali analizie profil transkrypcyjny dwóch genotypów ryżu - podatny oraz odporny na działanie *R. solani*. Również zaobserwowali, iż w toku trwania procesów patogenezy, genotyp odporny szybciej uruchamiał procesy ekspresji genów odpowiedzialnych za oddychanie komórkowe

i procesy energetyczne, w porównaniu do roślin podatnych. Zaobserwowali również silniejszą ekspresję genów kodujących glukozyltransferazy oraz genów białek biorących udział w procesach wzmacniania struktury ściany komórkowej oraz dekompozycji lignin. Hura i in. (2015) zaobserwowali, że genotypy rzepaku charakteryzujące się odpornością na działanie *L. maculans* wykazywały brak zaburzeń w gospodarce energetycznej. Odnotowali wzrost zawartości wolnych cukrów do 14. dnia po inokulacji u roślin odpornych. Dodatkowo zawartość wolnych cukrów skorelowana była ze wzrostem zawartości chlorofilu *a* i *b* w komórkach. Podobnej zależności nie obserwowali u roślin genotypów podatnych na patogena. Co więcej, wzrost zawartości wolnych cukrów będących produktem niezaburzonych procesów fotosyntezy skorelowany był również z zawartością wolnych metabolitów pod postacią związków fenolowych, czyli m.in. procesami wzmacniania struktury ściany komórkowej. Zaobserwowali także korelację pomiędzy wzrostem zawartości wolnych cukrów a zawartością antyoksydantów w tkankach roślin odpornych.

Zależności pomiędzy wszystkimi cechami mającymi wpływ na potencjalną odporność roślin zostały przeanalizowane za pomocą wielowymiarowej analizy PCA. Dokonano odrębnych analiz dla każdego z patogenów użytych w badaniach. Rozpatrując powiązania poszczególnych cech w pierwszej składowej  $Z_1$  zauważyć można, że składowa ta może odpowiadać za cechy oporności badanych roślin względem *R. solani*. W przypadku obu izolatów *R. solani* można zaobserwować, iż stopień porażenia roślin można powiązać z obserwowaną aktywnością dysmutazy ponadtlenkowej (zarówno w ujęciu całkowitej aktywności w tkankach jak i aktywności specyficznej) oraz zawartością wolnych cukrów. Dodatkowo położenie pszenicy okrągłozłazkowej, w obrębie analizowanych cech może sugerować ich istotną rolę w cesze oporności. Byłoby to potwierdzeniem obserwacji jakich dokonali Foley i in. (2016), którzy wykazali istotną rolę reaktywnych form tlenu w ograniczaniu *R. solani* w roślinach ryżu oraz badań Khaledi i in. (2016), w których zaobserwowali, iż rośliny pszenicy charakteryzujące się istotnie wyższą aktywnością, między innymi enzymów z grupy SOD, były mniej podatne na działanie patogenów *F. culmorum* oraz *F. graminearum*. Ponadto składowa  $Z_1$  w przypadku *R. solani* była silnie skorelowana z zawartością wolnych cukrów w tkankach, co również byłoby potwierdzeniem badań Yuan i in. (2018) oraz Ma i in. (2020). w badaniach tych wykazali oni istotę zapotrzebowania energetycznego roślin, procesów oddychania komórkowego oraz przemian związków energetycznych powiązanych ze skuteczną obroną komórek przed *R. solani*. Natomiast rozpatrując porażenie przez *R. cerealis* zaobserwować można było, że składowa  $Z_1$ , która jest powiązana również z aktywnością glukozyltransferazy w tkankach badanych roślin. Byłoby to potwierdzeniem doniesień Liu i in. (2009), którzy wskazali na enzymy z grupy

$\beta$ -1,3-glukanaz jako czynnik hamujący rozwój patogenów m.in. *R. cerealis* w warunkach *in vitro*. Aczkolwiek w przypadku pszenicy zwyczajnej zaobserwować można występowanie innego czynnika warunkującego obniżoną podatność na wybrane patogeny, gdyż analizując położenie tego genotypu na płaszczyźnie składowych (często ujemnie dla  $Z_1$  i  $Z_2$ ) występuje on w korelacji z osiągalną biomasa roślin. W toku przeprowadzonych badań stwierdzono, iż genotyp ten najlepiej radził sobie w kontakcie z wybranymi patogenami, nie wykazując tym samym wysokich aktywności badanych markerów. Sugeruje to występowanie innych czynników odpowiadających za potencjalne cechy odporności.

W żadnej z kombinacji uwzględniającej izolat *Rhizoctonia* AG-B0 nie stwierdzono jakichkolwiek zmian chorobowych. Nie obserwowano istotnych różnic pomiędzy roślinami kontrolnymi w kontekście negatywnym, tj. nie odnotowano spadku biomasy, a nawet dało się zaobserwować przyrost biomasy, zarówno pojedynczej rośliny jak i całej próbki. Parametr oddziaływań pomiędzy rośliną a mikroorganizmem (izolatami *Rhizoctonia*) w postaci relatywnej intensywności interakcji (RII) również nie wykazał pasożytniczego charakteru grzyba. Zarówno dla pojedynczej rośliny jak i w ujęciu całkowitym był on nieistotnie dodatni u wszystkich badanych gatunków pszenicy. Nie zaobserwowano pobudzenia aktywności  $\beta$ -1,3-glukanazy u badanych roślin. w przypadku pszenicy okrągłoziarnej rośliny traktowane *Rhizoctonia* AG-B0 charakteryzowały się istotnie niższą aktywnością  $\beta$ -1,3-glukanazy w porównaniu do roślin kontrolnych. Zaobserwowano pobudzenie aktywności chitynaz w tkankach pszenicy okrągłoziarnej. Rośliny tego genotypu traktowane szczepem *Rhizoctonia* AG-B0, charakteryzowały się również najwyższą notowaną aktywnością chitynolityczną, istotnie wyższą od roślin kontrolnych oraz tych poddanych działaniu *R. cerealis*.

Niepatogeniczny charakter izolatu *Rhizoctonia* AG-B0 może okazać się cenny w perspektywnym zwalczaniu patogenów z tego samego rodzaju. Są liczne przykłady wykorzystywania hipowirulentnych szczepów *Rhizoctonia* w ograniczaniu patogenicznych *Rhizoctonia*, jak również innych patogenów roślin. Istnieją doniesienia o pasożytniczym charakterze *Rhizoctonia* wobec takich patogenów jak *Pythium oligandrum*, *Pythium ultimum*, czy *P. ultimum* var. *sporangiiiferum* (Maculewicz 2015). W przypadku ograniczania patogenicznych *Rhizoctonia* przez wykorzystanie niepatogenicznych szczepów zaobserwowano, że do najbardziej skutecznych należą szczepy dwujądrowe. Villajuan-Abgona i in. (1996) zaobserwowali podobne zjawisko w badaniach nad ograniczaniem patogenów z rodzaju *Rhizoctonia* w uprawach ogórka. Niepatogeniczne, dwujądrowe szczepy *Rhizoctonia* były w stanie ograniczyć zgorzel siewek powodowaną przez *R. solani*. Co istotne, kluczowym okazał się moment wprowadzania szczepu ochronnego, tak by mógł on zająć odpowiednią

niszę i tym samym nie dopuścić wirulentnych szczepów do infekcji siewek. Odpowiednie biologiczne „zaprawienie” pozwoliło na skuteczne ograniczenie strat w doświadczeniach wazonowych. Podobnego efektu nie osiągnięto, kiedy oba mikroorganizmy wprowadzono jednocześnie. Dodatkowo obserwowano istotnie większą biomasa oraz wysokość roślin w porównaniu do roślin kontrolnych. Jiang i Tam (2000) zaobserwowali podobną zależność pomiędzy szczepem *Rhizoctonia* będącym grzybem mikoryzowym storczyków. Wyizolowany szczep okazał się skuteczny w ochronie kapusty sitowatej. Hipowirulentny izolat *Rhizoctonia* był w stanie ograniczyć negatywne działanie niektórych szczepów *R. solani*, chroniąc od 91 do 100% obsady. Z kolei Muslim i in. (2003 a i b) wykorzystali hipowirulentny szczep *Rhizoctonia* w ograniczaniu *F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* w siewkach szpinaku. Zaobserwowano istotne ograniczanie rozwoju patogena przez uprzednią inokulację roślin szczepem *Rhizoctonia*. Tym samym zmniejszono stopień porażenia roślin o nawet 100%. Dodatkowo zaobserwowano istotny wpływ niepatogenicznego mikroorganizmu na przyrosty biomasy roślin w odniesieniu do roślin kontrolnych. Również Muslim i in. (2019) wykorzystali hipowirulentne szczepy *Rhizoctonia* do pobudzania systemicznej odporności roślin ogórka, przeciw *Colletotrichum orbiculare*. Zaobserwowali oni, że odpowiednio wczesna inokulacja na odpowiednim „nośniku” powodowała istotne zmniejszenie stopnia porażenia roślin przez patogena oraz pobudzenie aktywności peroksydaz, w tym szybszego pojawienia się form izoenzymatycznych tego enzymu oraz silniejszej dekompozycji lignin w komórkach roślin.

Reasumując interakcja roślina-patogen może przybierać szeroki spektrum oddziaływań. Rośliny w toku ewolucji wypracowały wiele mechanizmów, aby przetrwać działanie potencjalnie niebezpiecznych mikroorganizmów. Sposób reakcji na dany patogen jest kluczowy dla przetrwania osobnika czy populacji. Mechanizmy te mogą przybierać postać wczesnego wykrywania mikroorganizmu, szybkiej indukcji procesów obronnych, przeciwdziałaniu zachwianiu gospodarki energetycznej czy procesów fotosyntezy, pobudzenia mechanizmów zwalczania bezpośredniego, indukcji procesów apoptozy w miejscu działania patogena etc.

Analiza sposobu reakcji roślin na patogeny umożliwia wyselekcjonowanie wartościowego dla hodowcy materiału genetycznego. Poszukiwanie i identyfikowanie wspomnianych reakcji jest niezbędne dla postępu biologicznego w hodowli roślin, tak by otrzymać materiał roślinny spełniający wymagania człowieka co do zaspokojenia potrzeb rozwijającej się populacji ludzkiej, ale również zmieniającego się świata i warunków w nim panujących (Vitale i in. 2020). Jest to proces, który będzie trwał nieustannie, gdyż na wypracowaną cechę oporności rośliny, mikroorganizmy z czasem znajdują mechanizm przeciwdziałania.

## 7. WNIOSKI

1. W wyniku przeprowadzonych doświadczeń wykazano brak całkowitej odporności badanych odmian pszenicy na *R. cerealis* i *R. solani*. Oba patogeny wykazywały preferencje co do miejsca proliferacji tkanek. *R. cerealis* AG-DI infekował w silniejszym stopniu podstawę pędu natomiast *R. solani* AG-5 - korzenie.
2. W badaniach polowych i laboratoryjnych wyodrębniono grupę genotypów roślin, która charakteryzowała się wysoką jak i obniżoną podatnością na grzyby z rodzaju *Rhizoctonia*. Tym samym określono pulę genotypów wykazujących preferowane cechy.
3. Najbardziej podatnym genotypem pszenicy okazała się odmiana Kris, zarówno w badaniach polowych jak i laboratoryjnych, tym samym nie wykazuje ona preferencji jako nośnik cech odporności w ewentualnej hodowli odpornościowej.
4. Najmniej podatne na porażenie okazały się takie odmiany jak: Akrotos, Akteur, Almari, Altigo, Bamberka, Banderola, Crackin, Dorota, Drifter, Fidelius, Figura, Flairway, Forkida, Garantus, Kampana, Kohelia, Naridana, Natula, Nutka, Pegassos, Popstar, Rockystar, Sakwa, Slade. Tym samym mogą one posłużyć do dalszych procesów hodowlanych jako rezerwuar cech obniżonej podatności na oba gatunki *Rhizoctonia*.
5. Stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy licznością obserwowanych objawów chorobowych na liściach (0,56), jak również intensywnością występowania objawów chorobowych (0,44) powodowanych przez *R. cerealis* i *R. solani*. Tym samym można przypuszczać o występowaniu podobnych reakcji obronnych w tych tkankach względem obu badanych patogenów.
6. Indeks interakcji roślina-mikroorganizm (RII) wykazał bardzo silny pasożytniczy charakter dla *R. solani* AG-11C oraz silny dla *R. solani* AG-5. *R. cerealis* AG-DI charakteryzował się znacznie słabszym oddziaływaniem pasożytniczym wobec badanych roślin, dlatego też stanowił on mniejsze zagrożenie dla badanych roślin w porównaniu do obu szczepów *R. solani*.
7. W badaniach wazonowych najmniej podatnymi genotypami na działanie *R. cerealis* AG-DI były pszenica twarda, pszenica okrągłoziarnowa i pszenica zwyczajna. w przypadku obu szczepów *R. solani* najlepsze cechy oporności wykazywała tylko pszenica zwyczajna. Żaden z pozostałych genotypów nie wykazywał zadowalających cech oporności względem *R. solani*. Tym samym można stwierdzić, iż inne badane

gatunki pszenic nie są dobrym źródłem odporności w hodowli odpornościowej pszenicy zwyczajnej.

8. Najwyższą obserwowaną aktywnością chitynaz charakteryzowały się rośliny pszenicy okrągłoziennej, aczkolwiek nie przekładała się ona na słabsze porażenie roślin przez *R. solani* czy *R. cerealis*. Najwyższą aktywnością  $\beta$ -1,3-glukanaz charakteryzowały się rośliny pszenicy twardej, co jednocześnie przekładało się na najslabsze porażenie roślin przez *R. cerealis*. Najwyższą aktywnością specyficzną dysmutazy ponadtlencowej w tkankach charakteryzowały się rośliny pszenicy okrągłoziennej oraz zwyczajnej. Jednocześnie obie pszenice lepiej radziły sobie w kontakcie z badanymi patogenami.
9. Analiza PCA dla *R. cerealis* AG-DI wykazała dodatnie powiązanie aktywności  $\beta$ -1,3-glukanaz z średnim stopniem porażenia. Aczkolwiek analiza sugeruje występowanie cech oporności na składowej Z2 powiązanie z aktywnością dysmutazy ponadtlencowej, chitynaz oraz zawartością wolnych cukrów. Z kolei PCA dla *R. solani* AG-5 wykazała dodatnie, umiarkowane powiązanie aktywności enzymów z klasy, chitynaz, dysmutazy ponadtlencowej oraz zawartością wolnych cukrów w tkankach, oraz w mniejszym stopniu z aktywnością  $\beta$ -1,3-glukanaz. Najsilniejsze powiązanie względem wymienionych cech zaobserwowano dla pszenicy okrągłoziennej. Analiza dla *R. solani* AG-11C wykazała natomiast dodatnie powiązanie aktywności dysmutazy ponadtlencowej z zawartością wolnych cukrów. Najmocniej powiązane były one z pszenicą okrągłozienową.
10. Ekspozycja roślin na *Rhizoctonia* AG-B0 powodowała zróżnicowaną reakcję roślin pod kątem pobudzenia aktywności wybranych markerów. Zaobserwowano stymulację chitynaz w tkankach pszenicy okrągłoziennej, której rośliny wykazywały istotnie większą aktywność. w przypadku glukanaz stymulujący efekt zaobserwowano dla roślin pszenicy orkisz. Istotnie większą zawartość cukrów zaobserwowano tylko dla pszenicy zwyczajnej. Wskazuje to na możliwość wykorzystania *Rhizoctonia* AG-B0 w biologicznej ochronie zbóż przed patogenicznymi gatunkami *Rhizoctonia*.



## 8. BIBLIOGRAFIA

- [1] Abeles F.B., Bosshart R.P., Forrence L.E., Habig W.H. 1970a. Preparation and purification of glucanase and chitinase from bean leaves. *Plant Physiol.* 47: 129–134.
- [2] Abeles F.B., Forrence L.E. 1970b. Temporal and hormonal control of  $\beta$ -1,3-glucanase in *Phaseolus vulgaris* L. *Plant. Physiol.* 45: 395–400.
- [3] Able A.J. 2003. Role of reactive oxygen species in the response of barley to necrotrophic pathogens. *Protoplasma* 221: 137–143.
- [4] Aiello D., Guarnaccia V., Formica P.T., Hyakumachi M., Polizzi G. 2017. Occurrence and characterisation of *Rhizoctonia* species causing diseases of ornamental plants in Italy. *Eur. J. Plant Pathol.* 148: 967–982.
- [5] Alscher R.G., Neval E., Lenwood S.H. 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *J. Exp. Bot.* 53(372): 1331–1341.
- [6] Arakawa M., Inagaki K. 2014. Molecular markers for genotyping anastomosis groups and understanding the population biology of *Rhizoctonia* species. *J. Gen. Plant Pathol.* 80: 401–407.
- [7] Armas C., Ordiales R., Pugnaire F. 2004. Measuring plant interactions: a new comparative index. *Ecology* 85(10): 2682–2686.
- [8] Asthir B., Koundal A., Bains N.S. 2011. Kinetic properties of cell wall bound superoxide dismutase in leaves of wheat (*Triticum aestivum* L.) following stripe rust (*Puccinia striiformis*) infection. *Indian J. Biochem. Bio.* 48: 341–345.
- [9] Bacete L., Melida H., Pattathil S., Hahn M.G., Molina A., Miedes E. 2017. Characterization of plant cell wall damage-associated molecular patterns regulating immune responses [In] Shan L., He P. (eds.). 2017. *Plant Pattern Recognition Receptors: Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology.* Springer Science + Buisness Media. USA: 13–24.
- [10] Baek J.M., Howell C.R., Kenerley C.M. 1999. The role of an extracellular chitinase from *Trichoderma virens* Gv29-8 in the biocontrol of *Rhizoctonia solani*. *Curr. Genet.* 35: 41–50.
- [11] Baenziger P., Graybosch R., Van Sanford D., Berzonsky W. 2009. Winter and specialty wheat [In] Marcelo J. Carena (ed.). 2009. *Cereals,* Springer Science + Buisness Media. USA: 251–265.
- [12] Bai G., Shaner G. 2004. Management and resistance in wheat and barley to Fusarium head blight. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42: 135–161.
- [13] Barnett S.J., Roget D.K., Ryder M.H. 2006. Suppression of *Rhizoctonia solani* AG-8 induced disease on wheat by the interaction between *Pantoea*, *Exiguobacterium*, and Microbacteria. *Aust. J. Soil Res.* 44: 331–342.

- [14] Beauchamp C., Fridovich I. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.* 44: 279–287.
- [15] Bernardo A., Bai G., Guo P., Xiao K., Guenzi A.C., Ayoubi P. 2007. *Fusarium graminearum*-induced changes in gene expression between *Fusarium* head blight-resistant and susceptible wheat cultivars. *Funct. Integr. Genomics* 7: 69–77.
- [16] Berta G., Sampo S., Gamalero E., Massa N., Lemanceau P. 2005. Suppression of *Rhizoctonia* root-rot of tomato by *Glomus mossae* BEG12 and *Pseudomonas fluorescens* A6RI is associated with their effect on the pathogen growth and on the root morphogenesis. *Eur. J. Plant Pathol.* 111: 279–288.
- [17] Bhattacharjee S. 2005. Reactive oxygen species and oxidative burst: roles in stress, senescence and signal transduction in plants. *Curr. Sci.* 89(7): 1113–1121.
- [18] Bolton M.D., Panella L., Campbell L., Khan M.F.R. 2010. Temperature, moisture, and fungicide effects in managing *Rhizoctonia* root and crown rot of sugar beet. *Phytopathology* 100: 689–697.
- [19] Bowler C., Van Montagu M., Inzé D. 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.* 43: 83–116.
- [20] Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248–254.
- [21] Buysens C., Dupré de Boulois H., Declerck S. 2015. Do fungicides used to control *Rhizoctonia solani* impact the non-target arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis*? *Mycorrhiza* 25: 277–288.
- [22] Champion C., Chatot C., Perraton B., Andrivon D. 2003. Anastomosis groups, pathogenicity and sensitivity to fungicides of *Rhizoctonia solani* isolates collected on potato crops in France. *Eur. J. Plant Pathol.* 109: 983–992.
- [23] Cartwright D.K., Benson D.M. 1995. Biological control of *Rhizoctonia* stem rot of *Poinsettia* in polyfoam rooting cubes with *Pseudomonas cepacia* and *Paecilomyces lilacinus*. *Biol. Control* 5: 237–244.
- [24] Chapman N.H., Burt C., Dong H., Nicholson P. 2008. The development of PCR-based markers for the selection of eyespot resistance genes *Pch1* and *Pch2*. *Theor. Appl. Genet.* 117: 425–433.
- [25] Chen J., Li G.H., Du Z.Y., Quan W., Zhang H.Y., Che M.Z., Wang Z., Zhang Z.J. 2013. Mapping of QTL conferring resistance to sharp eyespot (*Rhizoctonia cerealis*) in bread wheat at the adult plant growth stage. *Theor. Appl. Genet.* 126: 2865–2878.

- [26] Chen L., Zhang Z.Y., Liang H.X., Liu H.X., Du L.P., Xu H., Xin Z. 2008. Overexpression of *TiERF1* enhances resistance to sharp eyespot in transgenic wheat. *J. Exp. Bot.* 59(15): 4195–4204.
- [27] Chen X., Lili L., Zhang Y., Zhang J., Ouyang S., Zhang Q., Tong Y., Xu J., Zuo S. 2017. Functional analysis of polygalacturonase gene *RsPG2* from *Rhizoctonia solani*, the pathogen of rice sheath blight. *Eur. J. Plant Pathol.* 149: 491–502.
- [28] Chet I., Harman G.E., Baker R. 1981. *Trichoderma hamatum*: Its hyphal interactions with *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. *Microb. Ecol.* 7: 29–38.
- [29] Choupannejad R., Sharifnabi B., Fadaei Tehrani A.A., Gholami J. 2017. *Rhizoctonia solani* AG4 associated with foliar blight symptoms on barley in Iran. *Australas. Plant Path.* 12(2): 1–4.
- [30] Claerbout J., Decombel A., Volckaert A., Venneman S., Vandeveldel I., Bleyaert P., Neukermans J., Viaene N., Höfte M. 2019. Glasshouse-specific occurrence of basal rot pathogens and the seasonal shift of *Rhizoctonia solani* anastomosis groups in lettuce. *Eur. J. Plant Pathol.* 155: 841–858.
- [31] Cromey M.G., Butler R.C., Munro C.A., Shorter S.C. 2005. Susceptibility of New Zealand wheat cultivars to sharp eyespot. *N. Z. Plant Protect.* 58: 268–272.
- [32] Cromey M.G., Hide C.C.L., Meenken E.D. 2012. Resistance to sharp eyespot in wheat. *N. Z. Plant Protect.* 65: 204–212.
- [33] dal Soglio F.K., Bertagnolli B.L., Sinclair J.B., Yu G.-Y., Eastburn D.M. 1998. Production of chitinolytic enzymes and endoglucanase in the soybean rhizosphere in the presence of *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*. *Biol. Control* 12: 111–117.
- [34] Devaiah S.P., Shetty H.S. 2009. Purification of an infection-related acidic peroxidase from pearl millet seedlings. *Pestic. Biochem. Phys.* 94: 119–126.
- [35] Diani Z., Ouarragi E.M., Aissam S., Hsissou D., Modafar C.E. 2009. Induction of early oxidative events in soft wheat leaves inoculated with *Septoria tritici* and their relationship to resistance of Moroccan cultivars. *Int. J. Agric. Biol.* 11: 351–359.
- [36] Dong N., Liu X., Lu Y., Du L., Xu H., Liu H., Xin Z., Zhang Z. 2010. Overexpression of *TaPIEP1*, a pathogen-induced ERF gene of wheat, confers host-enhanced resistance to fungal pathogen *Bipolaris sorokiniana*. *Funct. Integr. Genomics* 10: 215–226.
- [37] Donmez M.F., Uysal B., Demirci E., Ercişli S., Cakmakçı R. 2015. Biological control of root rot disease caused by *Rhizoctonia solani* Kühn on potato and bean using antagonist bacteria. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus.* 14(5): 29–40.

- [38] Doornik A.W. 1982. Effect of storage duration and temperature on the survival of *Rhizoctonia solani* in tulip and iris bulbs. Neth. J. Plant. Pathol. 88: 185–190.
- [39] dos Reis Almeida F.B., Cerqueira F.M., do Nascimento Silva R., Ulhoa C.J., Lima A.L. 2007. Mycoparasitism studies of *Trichoderma harzianum* strains against *Rhizoctonia solani*: evaluation of coiling and hydrolytic enzyme production. Biotechnol. Lett. 29: 1189–1193.
- [40] DuBois M., Gilles K.A. Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. 1956. Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28: 350–356.
- [41] Elsharkawy M.M., Hassan N., Villajuan-Abgona R., Hyakumachi M. 2014. Mechanism of biological control of *Rhizoctonia* damping-off of cucumber by a non-pathogenic isolate of binucleate *Rhizoctonia*. Afr. J. Biotechnol. 13(5): 640–650.
- [42] Erper I., Kilicoglu M. Turkkan C.M., Onder H. 2016. Characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. isolated from winter squash in the Black Sea region of Turkey. Eur. J. Plant Pathol. 146: 683–697.
- [43] Fatima Z., Saleemi M., Zia M., Sultan T., Aslam M., Rehman R.U., Chaudhary F.M. 2008. Antifungal activity of plant growth-promoting rhizobacteria isolates against *Rhizoctonia solani* in wheat. African J. Biotechnol. 8(2): 219–225.
- [44] Foley R.C., Kidd B.N., Hane J.K., Anderson J.P., Singh K.B. 2016. Reactive oxygen species play a role in the infection of the necrotrophic fungi, *Rhizoctonia solani* in wheat. PLoS One 11(3): 1–16.
- [45] Fry W. 2008. *Phytophthora infestans*: the plant (and *R* gene) destroyer. Mol. Plant Pathol. 9(3): 385–402.
- [46] Ghosh S., Kanwar P., Jha G. 2017. Alterations in rice chloroplast integrity, photosynthesis and metabolome associated with pathogenesis of *Rhizoctonia solani*. Sci. Rep-UK. 7: 1–12.
- [47] Gill J.S., Sivasithamparam K., Smettem K.R.J. 2001. Effect of soil moisture at different temperatures on *Rhizoctonia* root rot of wheat seedlings. Plant Soil. 231: 91–96.
- [48] Goicoechea N., Aguirreolea J., Cenoz S., Garcia-Mina J.M. 2000. *Verticillium dahliae* modifies the concentrations of proline, soluble sugars, starch, soluble protein and abscisic acid in pepper plants. Eur. J. Plant Pathol. 106: 19–25.
- [49] Goswami S.K., Singh V., Kashyap P.L., Singh P.K. 2019. Morphological characterization and screening for sheath blight resistance using Indian isolates of *Rhizoctonia solani* AG11A. Indian Phytopathol. 72: 107–124.
- [50] Grunwald N.J., Flier W.G. 2005. The biology of *Phytophthora infestans* at its center of origin. Annu. Rev. Phytopathol. 43: 171–190.

- [51] Guo Y.X., Liu Q.H., Ng T.B., Wang H.X. 2005. Isarfelin, a peptide with antifungal and insecticidal activities from *Isaria felina*. *Peptides* 26: 2384–2391.
- [52] Gupta A.S., Webb R.P., Holaday A.S., Allen R.D. 1993. Overexpression of superoxide dismutase protects plants from oxidative stress. *Plant Physiol.* 103: 1067–1073.
- [53] Gutiérrez S.A., Cúndom M.A., Barrera V., Gasoni L. 2007. First record of *Rhizoctonia zeae* on corn in Argentina. *Australas. Plant Dis. Notes* 2: 137–138.
- [54] Hamada M.S. Yanni Y., Ma Z. 2011. Sensitivity to iprodione, difenoconazole and fludioxonil of *Rhizoctonia cerealis* isolates collected from wheat in China. *Crop Prot.* 30: 1028–1033.
- [55] Harris A.R., Adkins P.G. 1999. Versatility of fungal and bacterial isolates for biological control of damping-off disease caused by *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. *Biol. Control* 15: 10–18.
- [56] Hassan N., Elsharkawy M.M., Villajuan-Abgona R., Hyakumachi M. 2015. a nonpathogenic species of binucleate *Rhizoctonia* inhibits the formation of infection structures caused by *Rhizoctonia solani* on cucumber. *Acta Agric. Scand. B.* 65(3): 208–214.
- [57] Herr L.J. 1995. Biological control of *Rhizoctonia solani* by binucleate *Rhizoctonia* spp. and hypovirulent *R. solani* agents. *Crop Prot.* 14(3): 179–186.
- [58] Hura K., Hura T., Dziurka K., Dziurka M. 2015. Carbohydrate, phenolic and antioxidant level in relations to chlorophyll a content in oilseed winter rape (*Brassica napus* L.) inoculated with *Leptosphaeria maculans*. *Eur. J. Plant Pathol.* 143: 291–303.
- [59] Hwangbo H., Kim K.Y., Choi H.S. 2016. Effects of biocontrol agents on suppression of damping-off in *Cucumis sativus* L. caused by *Rhizoctonia solani*. *Hortic. Environ. Biote.* 57(2): 191–196.
- [60] Innocenti G., Roberti R., Montanari M., Zakrisson E. 2003. Efficacy of microorganisms antagonistic to *Rhizoctonia cerealis* and their cell wall degrading enzymatic activities. *Mycol. Res.* 107(4): 421–427.
- [61] Inokuti E.M., Thiery-Lanfranchi D., Edel-Hermann V., Gautheron N., Fayolle L., Michereff S.J., Steinberg C. 2019. Genetic and pathogenic variability of *Rhizoctonia solani* causing crown and root rot on sugar beet in France. *J. Plant Pathol.* 101(4): 907–916.
- [62] Iqbal A., Khan R.S., Shehryar K., Imran A., Ali F., Attia S., Shah S., Mii M. 2019. Antimicrobial peptides as effective tools for enhanced disease resistance in plants. *Plant Cell Tiss Org.* 139: 1–15.
- [63] Janni M., Sella L., Favaron F., Blechl A.E., De Lorenzo G., D’Ovidio R. 2008. The expression of a bean PGIP in transgenic wheat confers increased resistance to the fungal pathogen *Bipolaris sorokiniana*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 21(2): 171–177.

- [64] Jiang J.H., Tam S.L., Toda T., Chen L.C. 2016. Controlling *Rhizoctonia* damping-off of chinese mustard by using endomycorrhizal *Rhizoctonia* spp. isolated from orchid mycorrhizae. *Plant Dis.* 100: 85–91.
- [65] Jung W.J., Mabood F., Kim T.H., Smith D.L. 2007. Induction of pathogenesis-related proteins during biocontrol of *Rhizoctonia solani* with *Pseudomonas aureofaciens* in soybean (*Glycine max* L. Merr.) plants. *Biocontrol* 52: 895–904.
- [66] Kang J.N., Park M.Y., Kim W.N., Kang H.G., Sun H.J., Yang D.H., Ko S.M., Lee H.Y. 2017. Resistance of transgenic zoysiagrass overexpressing the zoysiagrass class II chitinase gene *Zjchi2* against *Rhizoctonia solani* AG2-2 (IV). *Plant Biotechnol. Rep.* 11(4): 229–238.
- [67] Kannaiyan S. 1988. Effect of certain fungicides on the production of enzymes by *Rhizoctonia solani*. *Plant. Soil.* 108: 299–302.
- [68] Kasprzewska A. 2003. Plant chitinases – regulation and function. *Cell. Mol. Biol. Lett.* 8: 809–824.
- [69] Kassambara A. 2017a. Practical Guide To Cluster Analysis in R. Unsupervised Machine Learning. Edition I. STHDA.
- [70] Kassambara A. 2017b. Practical Guide to Principal Component Methods in R. Edition I. STHDA.
- [71] Kazempour M.N. 2004. Biological control of *Rhizoctonia solani*, the causal agent of rice sheath blight by antagonistic bacteria in greenhouse and field conditions. *J. Plant Pathol.* 3(2): 88–96.
- [72] Khaledi N., Taheri P., Falahati-Rastegar M. 2016. Reactive oxygen species and antioxidant system responses in wheat cultivars during interaction with *Fusarium* species. *Australas. Plant Pathol.* 45: 653–670.
- [73] Kiewnick S., Jacobsen B.J., Braun-Kiewnick A., Eckhoff J.L.A., Bergman J.W. 2001. Integrated control of *Rhizoctonia* crown and root rot of sugar beet with fungicides and antagonistic bacteria. *Plant Dis.* 85: 718–722.
- [74] Koch E. 1998. Evaluation of commercial products for microbial control of soil-borne plant diseases. *Crop Prot.* 18: 119–125.
- [75] Kucharska K., Wachowska U. 2015. Wpływ niewłaściwej utylizacji pozostałości środków ochrony roślin na mikroorganizmy glebowe. *Ecol. Eng.* 45: 93–98.
- [76] Kucharska K., Katulski B., Goriewa K., Duba A., Wachowska U. 2018. Pathogenicity and fungicide sensitivity of *Rhizoctonia solani* and *R. cerealis* isolates. *Gesunde Pflanzen* 70(10): 13–19.
- [77] Kurowski T.P., Marks M., Makowski P., Jaźwińska E. 2009. Zdrowotność pszenicy ozimej w stanowiskach po różnych sposobach dwuletniego ugorowania. *Fragm. Agron.* 26(3): 102–108.
- [78] Lagudah E.S., Krattinger S.G., Herrera-Foessel S., Singh R.P., Huerta-Espino J., Spielmeier W., Brown-Guedira G., Selter L.L., Keller B.

2009. Gene-specific markers for the wheat gene *Lr34/Yr18/Pm38* which confers resistance to multiple fungal pathogens. *Theor. Appl. Genet.* 119: 889–898.
- [79] Lakshmidivi N., Sudisha J., Mahadevamurthy S., Prakash H.S., Shekar Shetty H. 2010. First report of the seed-borne nature of root and collar rot disease caused by *Rhizoctonia solani* in sunflower from India. *Australas. Plant Dis. Notes* 5: 11–13.
- [80] Lanoiselet V.M., Cother E.J., Cother N.J., Ash G., Harper J.D. 2005. Comparison of two total cellular fatty acid analysis protocols to differentiate *Rhizoctonia oryzae* and *R. oryzae-sativae*. *Mycologia* 97(1): 77–83.
- [81] Lemańczyk G. 2012. Susceptibility of winter triticale cultivars to *Rhizoctonia cerealis* (sharp eyespot) and *R. solani*. *J. Plant. Prot. Res.* 52(4): 421–433.
- [82] Lemańczyk G., Kwaśna H. 2013. Effects of sharp eyespot (*Rhizoctonia cerealis*) on yield and grain quality of winter wheat. *Eur. J. Plant Pathol.* 135: 187–200.
- [83] Leonard J.M., Watson C.J. W., Carter A.H., Hansen J.L., Zemetra R.S., Santra D.K., Campbell K.G., Riera-Lizarazu O. 2008. Identification of a candidate gene for the wheat endopeptidase *Ep-D1* locus and two other STS markers linked to the eyespot resistance gene *Pch1*. *Theor. Appl. Genet.* 116: 261–270.
- [84] Li H., Rodda M., Gnanasambandam A., Aftab M., Redden R., Hobson K., Rosewarne G., Materne M., Kaur S., Slater A.T. 2015. Breeding for biotic stress resistance in chickpea: progress and prospects. *Euphytica* 204: 257–288.
- [85] Li H.J., Arterburn M., Jones S.S., Murray T.D. 2005. Resistance to eyespot of wheat, caused by *Tapesia yallundae*, derived from *Thinopyrum intermedium* homoeologous group 4 chromosome. *Theor. Appl. Genet.* 111: 932–940.
- [86] Li J., Ye X., An B., Du L., Xu H. 2012. Genetic transformation of wheat: current status and future prospects. *Plant Biotechnol. Rep.* 6: 183–193.
- [87] Li W., Guo Y., Zhang A., Chen H. 2017. Genetic structure of populations of the wheat sharp eyespot pathogen *Rhizoctonia cerealis* anastomosis group D subgroup i in China. *Phytopathology* 107: 224–230.
- [88] Li Z., Zhou M., Zhang Z., Ren L., Du L., Zhang B., Xu H., Xin Z. 2011. Expression of a radish defensin in transgenic wheat confers increased resistance to *Fusarium graminearum* and *Rhizoctonia cerealis*. *Funct. Integr. Genomics* 11: 63–70.

- [89] Lin W., Anuratha C.S., Datta K., Potrykus I., Muthukrishnan S., Datta S.K. 1995. Genetic engineering of rice for resistance to sheath blight. *Bio/technology* 13(7): 686–691.
- [90] Liu B., Lu Y., Xin Z., Zhang Z. 2009. Identification and antifungal assay of a wheat  $\beta$ -1, 3-glucanase. *Biotechnol. Lett.* 31: 1005–1010.
- [91] Liu C.H., Zou W.X., Lu H., Tan R.X. 2001. Antifungal activity of *Artemisia annua* endophyte cultures against phytopathogenic fungi. *J. Biotechnol.* 88: 277–282.
- [92] Ma H., Sheng C., Qiao L., Zhao H., Niu D. 2020. a comparative proteomic approach to identify defence-related proteins between resistant and susceptible rice cultivars challenged with the fungal pathogen *Rhizoctonia solani*. *Plant Growth Regul.* 90: 73–88.
- [93] Maculewicz D. 2015. Binucleate *Rhizoctonia* spp. as a biocontrol agents against plant pathogens. *Ecol. Chem. Eng. A.* 22(2): 195–203.
- [94] Maglovski M., Gregorová Z., Rybanský L., Mészáros P., Moravčíková J., Hauptvogel P., Adamec L., Matušíková I. 2017. Nutrition supply affects the activity of pathogenesis-related  $\beta$ -1,3-glucanases and chitinases in wheat. *J. Plant Growth Regul.* 81: 443–453.
- [95] Mahoney A.K., Babiker E.M., See D.R., Paulitz T.C., Okubara P.A., Hulbert S.H. 2017. Analysis and mapping of *Rhizoctonia* root rot resistance traits from the synthetic wheat (*Triticum aestivum* L.) line SYN-172. *Mol. Breeding* 37: 130.
- [96] Martin S.B., Campbell C.L. Lucas L.T. 1984a. Response of *Rhizoctonia* blights of tall fescue to selected fungicides in the greenhouse. *Phytopathology* 74: 782–785.
- [97] Martin S.B., Lucas L.T., Campbell C.L. 1984b. Comparative sensitivity of *Rhizoctonia solani* and *Rhizoctonia*-like fungi to selected fungicides *in vitro*. *Phytopathology* 74: 778–781.
- [98] Mauch F., Mauch-Mani B., Boller T. 1988. Antifungal hydrolases in pea tissue. *Plant Physiol.* 88: 936–942.
- [99] McCord J.M., Fridovich I. 1969. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte hemoglobin. *J. Biol. Chem.* 244: 6049–6055.
- [100] Melgar J.C., Abney T.S., Vierling R.A. 2006. Peroxidase activity in soybeans following inoculation with *Phytophthora sojae*. *Mycopathologia* 161: 37–42.
- [101] Meyer N., Lind V., Heindorf M., Korzun V., Friedt W., Ordon F. 2011. Diagnostic value of molecular markers linked to the eyespot resistance gene *Pch1* in wheat. *Euphytica* 177: 267–275.
- [102] Miller G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31(3): 426–428.



- [103] Minibayeva F., Beckett R.P., Kranner I. 2015. Roles of apoplastic peroxidases in plant response to wounding. *Phytochemistry* 112: 122–129.
- [104] Misawa T., Kayamori M., Kurose D., Sasaki J., Toda T. 2017. First report of *Rhizoctonia* disease of lily caused by *Rhizoctonia solani* AG-11 in Japan. *J. Gen. Plant Pathol.* 83: 406–409.
- [105] Mnif I., Grau-Campistany A., Coronel-León J., Hammami I., Triki M.A., Manresa A., Ghribi D. 2016. Purification and identification of *Bacillus subtilis* SPB1 lipopeptide biosurfactant exhibiting antifungal activity against *Rhizoctonia bataticola* and *Rhizoctonia solani*. *Environ. Sci. Pollut Res.* 23(7): 690–699.
- [106] Moliszewska E., Nabrdalik M., Ziembik Z. 2020. *Rhizoctonia solani* AG 11 isolated for the first time from sugar beet in Poland. *Saudi J. Biolo. Sci.* 27: 1863–1870.
- [107] Muslim A., Hyakumachi M., Kageyama K., Suwandi S. 2019. Induction of systemic resistance in cucumber by hypovirulent binucleate *Rhizoctonia* against anthracnose caused by *Colletotrichum orbiculare*. *Trop. Life Sci. Res.* 30(1): 109–122.
- [108] Muslim A., Horinouchi H., Hyakumachi M. 2003. Biological control of Fusarium wilt of tomato with hypovirulent binucleate *Rhizoctonia* in greenhouse conditions. *Mycoscience* 44: 77–84.
- [109] Muslim A., Horinouchi H., Hyakumachi M. 2003. Suppression of Fusarium wilt of spinach with hypovirulent binucleate *Rhizoctonia*. *J. Gen. Plant. Pathol.* 69: 143–150.
- [110] Nabrdalik M., Moliszewska E. 2017. Application of antagonistic properties of *Bacillus subtilis* against *Rhizoctonia solani*. *Proceedings ECOpole.* 11(1): 231–240.
- [111] Nabrdalik M., Moliszewska E., Wierzba S. 2018. Importance of endophytic strains *Pantoea agglomerans* in the biological control of *Rhizoctonia solani*. *Ecol. Chem. Eng. S.* 25(2): 331–342.
- [112] Nagrodzka K., Moliszewska E., Grata K., Nabrdalik M. Biological control of *Rhizoctonia solani* AG 2-2IIIB by *Bacillus subtilis* metabolites. 2016. *Proceedings ECOpole.* 10(2): 741–748.
- [113] Nawrocka J., Małolepsza U., Szymczak K., Szczech M. 2018. Involvement of metabolic components, volatile compounds, PR proteins, and mechanical strengthening in multilayer protection of cucumber plants against *Rhizoctonia solani* activated by *Trichoderma atroviride* TRS25. *Protoplasma* 255: 359–373.
- [114] Nevo E., Korol A.B., Beiles A., Fahima T. 2002. Evolution of wild emmer and wheat improvement - population genetics, genetic resources, and genome organization of wheat's progenitor, *Triticum dicoccoides*. Springer.

- [115] Okabura P.A., Steber C.M., DeMacon V.L., Walter N.L., Paulitz T.C., Kidwell K.K. 2009. Scarlet-Rz1, an EMS-generated hexaploid wheat with tolerance to the soilborne necrotrophic pathogens *Rhizoctonia solani* AG-8 and *R. oryzae*. *Theor. Appl. Genet.* 119: 293–303.
- [116] Østergaard L., Teilum K., Mirza O., Mattsson O., Petersen M., Welinder K.G., Mundy J., Gajhede M., Henriksen A. 2000. Arabidopsis ATP A2 peroxidase. Expression and high-resolution structure of a plant peroxidase with implications for lignification. *Plant. Mol. Biol.* 44: 23–243.
- [117] Owuochi J.O., Sears R.G., Brown-Guedira G.L., Gill B.S., Fritz A.K. 2003. Heterotic effects of wheat-rye chromosomal translocations on agronomic traits of hybrid wheat (*Triticum aestivum* L.) under an adequate moisture regime. *Euphytica* 132: 67–77.
- [118] Paranidharan V., Palaniswami A., Vidhyasekaran P., Velazhahan R. 2003. Induction of enzymatic scavengers of active oxygen species in rice in response to infection by *Rhizoctonia solani*. *Acta. Physiol. Plant.* 25(1): 91–96.
- [119] Pasquariello M., Ham J., Burt C., Jahier J., Paillard S., Uauy C., Nicholson P. 2017. The eyespot resistance genes *Pch1* and *Pch2* of wheat are not homoeoloci. *Theor. Appl. Genet.* 130: 91–107.
- [120] Passardi F., Penel C., Dunand Ch. 2004. Performing the paradoxical: how plant peroxidases modify the cell wall. *Trends. Plant. Sci.* 9(11): 534–540.
- [121] Patykowski J. 2008. Rola apoplastu w interakcji roślina – patogen po infekcji pomidora przez *Botrytis cinerea*. Wyd. UŁ. Łódź.
- [122] Peng J.H., Sun D., Nevo E. 2011. Domestication evolution, genetics and genomics in wheat. *Mol. Breeding* 28: 281–301.
- [123] Pineda-Mendoza D.Y., Gonzalez-Mancilla A., Almaraz J.J., Rodríguez-Guzman M.P., García-Barradas O., Argumedo-Delira R. 2018. Characterization of the antifungal activity of three rhizobacterial strains against *Rhizoctonia solani*. *Span. J. Agric. Res.* 16(4): 1–10.
- [124] Płonka K.J., Roj J. 2012. Wrażliwość pięciu odmian pszenicy ozimej na *Rhizoctonia cerealis* i *R. solani*. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 52(3): 657–662.
- [125] Rachoń L., Szumiło G., Stankowski S. 2011. Porównanie wybranych wskaźników wartości technologicznej pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* ssp. *vulgare*), twardej (*Triticum durum*) i orkiszowej (*Triticum aestivum* spp. *spelta*). *Fragm. Agron.* 28(4): 52–59.
- [126] Radjacommaro R., Kandan A., Nandakumar R., Samiyappan R. 2004. Association of the hydrolytic enzyme chitinase against *Rhizoctonia solani* in rhizobacteria-treated rice plants. *J. Phytopathol.* 152: 365–370.
- [127] Rajesh T., Maruthsalam S., Kalpana K., Poovannan K., Kumar K.K., Kokiladevi E., Sudhakar D., Samiyappan R., Balasubramanian P. 2016.

- Stability of sheath blight resistance in transgenic ASD16 rice lines expressing a rice *chil1* gene encoding chitinase. *Biol. Plant.* 60(4): 749–756.
- [128] Ren T., Ren Z., Yang M., Yan B., Tan F., Fu S., Tang Z., Li Z. 2018. Novel source of 1RS from Baili rye conferred high resistance to diseases and enhanced yield traits to common wheat. *Mol. Breeding* 38(8): 101.
- [129] Rong W., Luo M., Shan T., Wei X., Du L., Xu H., Zhang Z. 2016. a Wheat cinnamyl alcohol dehydrogenase TaCAD12 contributes to host resistance to the sharp eyespot disease. *Front. Plant Sci.* 7: 1–15.
- [130] Rosa D.D., Ohto C.T., Basseto M.A., Furtado E.L., de Souza N.L. 2008. First report of *Rhizoctonia solani* AG 4 HG-II attacking *Gazania rigens* plants in Brazil. *Australas. Plant Dis. Notes* 3(1): 1–2.
- [131] Rybka K., Aresniuk E., Wiśniewska J., Raczyńska-Bojanowska K. 1998. Comparative studies on the activities of chitinase,  $\beta$ -1,3-glucanase, peroxidase and phenylalanine ammonia lyase in the leaves of triticale and wheat infected with *Stagonospora nodorum*. *Acta. Physiol. Plant* 20(1): 59–66.
- [132] Salameh A., Buerstmayr M., Steiner B., Neumayer A., Lemmens M., Buerstmayr H. 2011. Effects of introgression of two QTL for Fusarium head blight resistance from Asian spring wheat by marker-assisted backcrossing into European winter wheat on Fusarium head blight resistance, yield and quality traits. *Mol. Breeding* 28: 485–494.
- [133] Santamarina M.P., Rosello J. 2006. Influence of temperature and water activity on the antagonism of *Trichoderma harzianum* to *Verticillium* and *Rhizoctonia*. *Crop. Prot.* 25: 1130–1134.
- [134] Scandalios J.G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiol.* 101: 7–12.
- [135] Shan T., Rong W., Xu H., Du L., Liu X., Zhang Z. 2016. The wheat R2R3-MYB transcription factor TaRIM1 participates in resistance response against the pathogen *Rhizoctonia cerealis* infection through regulating defense genes. *Sci. Rep.* 6: 1–14.
- [136] Shrestha C.L., Oña I., Muthukrishnan S., Mew T.W. 2008. Chitinase levels in rice cultivars correlate with resistance to the sheath blight pathogen *Rhizoctonia solani*. *Eur. J. Plant Pathol.* 120: 69–77.
- [137] Solanki M.K., Yandigeri M.S., Kumar S., Singh R.K., Srivastava A.K. 2019. Co-inoculation of different antagonists can enhance the biocontrol activity against *Rhizoctonia solani* in tomato. *Antonie Van Leeuwenhoek* 112(11): 1633–1644.
- [138] Sorahinobar M., Niknam V., Ebrahimzadeh H., Soltanloo H. 2015. Differential antioxidative responses of susceptible and resistant wheat cultivars against Fusarium head blight. *Int. J. Farm Sci.* 4(3): 239–243.

- [139] Stasiulewicz-Paluch A.D., Wachowska U. 2015. Ekotoksyczność i fitotoksyczność środków ochrony roślin wobec grzybów ryzosferowych i siewek pszenicy ozimej. *Ecol. Eng.* 45: 106–113.
- [140] Swarbrick P.J., Schulze-Lefert P., Scholes J.D. 2006. Metabolic consequences of susceptibility and resistance (race-specific and broad-spectrum) in barley leaves challenged with powdery mildew. *Plant Cell Environ.* 29: 1061–1076.
- [141] Telmadarrehei T., Ghanbary M.A.T., Rahimian H., Rezazadeh A., Javadi M.A. 2011. Isolation and some pathologic properties of *Rhizoctonia zea* from cultural soils of Golestan and Mazandaran Provinces, Iran. *World Appl. Sci. J.* 14(3): 374–377.
- [142] Townsend G.R., Heuberger J.W. 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Plant Dis. Rep.* 24: 340–343.
- [143] Trevisana M.T.S., Schefferb J.J.C., Verpoorte R. 2003. Peroxidase activity in hop plants after infestation by red spider mites. *Crop Prot.* 22: 423–424.
- [144] Trillas M.I., Casanova E., Cotxarrera L., Ordovás J., Borrero C., Avilés M. 2006. Composts from agricultural waste and the *Trichoderma asperellum* strain T-34 suppress *Rhizoctonia solani* in cucumber seedlings. *Biol. Control* 39: 32–38.
- [145] Tyagi M., Kayastha A.M., Sinha B. 2001. Induction of chitinase and  $\beta$  - 1,3-glucanase in resistant and susceptible wheat lines following infection with *Alternaria triticina*. *J. Plant Biochem Biot.* 10: 71–74.
- [146] Urbanek H., Gajewska E., Karwowska R., Wielanek M. 1996. Generation of superoxide anion and induction of superoxide dismutase and peroxidase in bean leaves infected with pathogenic fungi. *Acta Biochim. Pol.* 43(4): 679–686.
- [147] Vajna L., Oros G. 2005. First report of *Rhizoctonia zea* on *Lolium perenne* and *Festuca* sp. in Hungary. *Plant Pathol.* 54: 250.
- [148] Vallabhaneni S.D. 2016. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* in tobacco (*Nicotiana tabacum*) seed beds using *Pseudomonas fluorescens*. *Agric. Res.* 5(2): 137–144.
- [149] Velikova V., Yordanov I., Edreva A. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants protective role of exogenous polyamines. *Plant Sci.* 151: 59–66.
- [150] Villajuan-Abgona R., Kageyama K., Hyakurnachi M. 1996. Biocontrol of *Rhizoctonia* damping-off of cucumber by non-pathogenic binucleate *Rhizoctonia*. *Eur. J. Plant Pathol.* 102: 227–235.
- [151] Vitale J., Adam B., Vitale P. 2020. Economics of wheat breeding strategies: Focusing on Oklahoma hard red winter wheat. *Agronomy*, 10(2): 1–15.

- [152] Wachowska U., Borowska J. 2014. Antagonistic yeasts competes for iron with winter wheat stem base pathogens. *Gesunde Pflanz.* 66: 141–148.
- [153] Wang H.H., Meng J., Peng X.X., Tang X.K., Zhou P.L., Xiang J.H., Deng X.B. 2015. Rice WRKY4 acts as a transcriptional activator mediating defense responses toward *Rhizoctonia solani*, the causing agent of rice sheath blight. *Plant Mol. Biol.* 89: 157–171.
- [154] Wang Sh., Ye X., Chen J., Rao P. 2012. a novel chitinase isolated from *Vicia faba* and its antifungal activity. *Food. Res. Int.* 45: 116–122.
- [155] Webb K.M., Harveson R.M., West M.S. 2015. Evaluation of *Rhizoctonia zea* as a potential biological control option for fungal root diseases of sugar beet. *Ann. Appl. Biol.* 167: 75–89.
- [156] Willi Y., Frank A., Heinzelmann R., Kälin A., Spalinger L. Ceresini P.C. 2011. The adaptive potential of a plant pathogenic fungus, *Rhizoctonia solani* AG-3, under heat and fungicide stress. *Genetica* 139: 903–908.
- [157] Wojtaszek P. 1997. Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection. *Biochem. J.* 322: 681–692.
- [158] Woo Sh. L., Ruocco M., Vinale F., Nigro M., Marra R., Lombardi N., Pascale A., Lanzuise S., Manganiello G., Lorito M. 2014. *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. *Open Mycol J.* 8: 71–126.
- [159] Wu X., Cheng K., Zhao R., Zang Sh., Bie T., Jiang Z., Wu R., Gao D., Zhang B. 2017. Quantitative trait loci responsible for sharp eyespot resistance in common wheat CI12633. *Sci. Rep.* 7: 1–7.
- [160] Xue L., Charest P.M., Jabaji-Hare S.H. 1998. Systemic induction of peroxidases, 1, 3-  $\beta$  -glucanases, chitinases, and resistance in bean plants by binucleate *Rhizoctonia* species. *Biol. Control* 88(4): 359–365.
- [161] Yin C., Hulbert S.H., Schroeder K.L., Mavrodi O., Mavrodi D., Dhingra A., Schillinger W.F., Paulitz T.C. 2013. Role of bacterial communities in the natural suppression of *Rhizoctonia solani* bare patch disease of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Appl. Environ. Microb.* 79(23): 7428–7438.
- [162] Yuan Z., Zhang Y., Xu G., Bi D., Qu H., Zou X., Gao X., Yang H., He H., Wang X., Bao J., Zuo S., Pan X., Zhou B., Wang G.-L., Qu S. 2018. Comparative transcriptome analysis of *Rhizoctonia solani*-resistant and -susceptible rice cultivars reveals the importance of pathogen recognition and active immune responses in host resistance. *J. Plant Biol.* 61: 143–158.

## 9. SPIS FOTOGRAFII, RYCIN I TABEL

### 9.1. Fotografie

- Fot. 1. Doświadczenie odmianowe prowadzone w Stacji Badawczej WRiB w Mochełku.
- Fot. 2. Rośliny pszenicy poddane działaniu patogenom z rodzaju *Rhizoctonia* – od lewej warianty kontrolne (1K-4K), warianty wystawione na działanie *R. solani* AG-11C (4.1–4.4).
- Fot. 3. Rośliny pszenicy poddane działaniu patogenów *R. solani* AG-11C.
- Fot. 4. Objawy chorobowe na podstawie pędu pszenicy okrągłozianowej spowodowane przez *R. solani* AG-11C.
- Fot. 5. Rośliny pszenicy poddane działaniu patogenom z rodzaju *Rhizoctonia* – od lewej warianty kontrolne (1K-4K), warianty wystawione na działanie *R. solani* AG-5 (1.1–1.4).
- Fot. 6. Objawy chorobowe na podstawie pędu pszenicy okrągłozianowej spowodowane przez *R. solani* AG-5.
- Fot. 7. Rośliny pszenicy poddane działaniu patogenom z rodzaju *Rhizoctonia* – od lewej warianty kontrolne (1K-4K), warianty wystawione na działanie *Rhizoctonia* AG-B0 (3.1–3.4).
- Fot. 8. Rośliny pszenicy poddane działaniu patogenom z rodzaju *Rhizoctonia* – od lewej warianty kontrolne (1K-4K), warianty wystawione na działanie *R. cerealis* AG-DI (2.1–2.4).

### 9.2. Rysunki

- Rys. 1. Grupowanie hierarchiczne genotypów pszenicy w testach polowych metodą K-średnich w formie drzewa filogenetycznego.
- Rys. 2. Grupowanie hierarchiczne genotypów pszenicy w testach polowych metodą K-średnich w układzie dwuwymiarowym.
- Rys. 3. Grupowanie hierarchiczne odmian pszenicy w testach bibułowymi metodą K-średnich w formie drzewa filogenetycznego.
- Rys. 4. Grupowanie hierarchiczne odmian pszenicy w testach bibułowymi metodą K-średnich w układzie dwuwymiarowym.
- Rys. 5. Mapa gorąca stopnia porażenia (standaryzowany indeks chorobowy) poszczególnych części roślin w teście bibułowymi.
- Rys. 6. Zależność pomiędzy nasileniem występowania objawów na korzeniach roślin spowodowanych przez *R. solani* AG-5 i *R. cerealis* AG-DI w teście bibułowymi.

- Rys. 7. Zależność pomiędzy nasileniem występowania objawów na podstawie pędu spowodowanych przez *R. solani* AG-5 i *R. cerealis* AG-DI w teście bibułowym.
- Rys. 8. Zależność pomiędzy nasileniem występowania objawów na liściach spowodowanych przez *R. solani* AG-5 i *R. cerealis* AG-DI w teście bibułowym.
- Rys. 9. Zależność pomiędzy licznością obserwowanych objawów chorobowych na liściach spowodowanych przez *R. solani* AG-5 i *R. cerealis* AG-DI w teście bibułowym.
- Rys. 10. Zależność pomiędzy nasileniem występowania objawów na korzeniach i podstawie pędu spowodowanych przez *R. cerealis* AG-DI w teście bibułowym.
- Rys. 11. Zależność pomiędzy nasileniem występowania objawów na podstawie pędu i na liściach spowodowanych przez *R. cerealis* AG-DI w teście bibułowym.
- Rys. 12. Zależność pomiędzy nasileniem występowania objawów na korzeniach i podstawie pędu spowodowanych przez *R. solani* AG-5 w teście bibułowym.
- Rys. 13. Zależność pomiędzy nasileniem występowania objawów na podstawie pędu i liściach spowodowanych przez *R. solani* AG-5 w teście bibułowym.
- Rys. 14. Procent roślin wybranych gatunków pszenicy z objawami porażenia przez różne genotypy *Rhizoctonia*.
- Rys. 15. Indeks nasilenia objawów chorobowych na wybranych gatunkach pszenic spowodowanych przez różne genotypy *Rhizoctonia* [DI w %] - doświadczenie wazonowe.
- Rys. 16. Średni stopień porażenia roślin wybranych gatunków pszenicy przez różne genotypy *Rhizoctonia* - doświadczenie wazonowe.
- Rys. 17. Świeża biomasa roślin [g-roślina<sup>-1</sup>].
- Rys. 18. Świeża całkowita biomasa roślin pszenic [g] w zależności od genotypu *Rhizoctonia* (doświadczenie wazonowe).
- Rys. 19. Współczynniki relatywnej intensywności interakcji (RII) w przeliczeniu na pojedynczą roślinę pszenic.
- Rys. 20. Współczynnik relatywnej intensywności interakcji (RII) w odniesieniu do całkowitej uzyskanej biomasy.
- Rys. 21. Aktywność chitynaz w tkance roślinnej pszenicy [U nMol·h<sup>-1</sup>·g świeżej masy<sup>-1</sup>] w zależności od genotypu *Rhizoctonia*.
- Rys. 22. Aktywność chitynaz w tkance roślinnej pszenic [U nMol·h<sup>-1</sup>·mg białka<sup>-1</sup>] w zależności od genotypu *Rhizoctonia*.

- Rys. 23. Aktywność glukanaz w tkance roślinnej [U nMol·h<sup>-1</sup> g świeżej masy<sup>-1</sup>].
- Rys. 24. Aktywność glukanaz w tkance roślinnej pszenic [U nMol·h<sup>-1</sup>·mg białka<sup>-1</sup>] w zależności od genotypu *Rhizoctonia*.
- Rys. 25. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w tkance roślinnej pszenic [U·g świeżej masy<sup>-1</sup>] w zależności od genotypu *Rhizoctonia*.
- Rys. 26. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w tkance roślinnej pszenic [U·mg białka<sup>-1</sup>] w zależności od genotypu *Rhizoctonia*.
- Rys. 27. Zawartość wolnych cukrów w tkance roślin różnych gatunków pszenic [μg·g świeżej masy<sup>-1</sup>] w zależności od genotypu *Rhizoctonia*.
- Rys. 28. Projekcja cech gatunków pszenic na płaszczyźnie składowych głównych dla porażenia przez *R. cerealis* AG-DI.
- Rys. 29. Klasyfikacja wrażliwości gatunków pszenic na porażenie przez *R. cerealis* AG-DI według składowych głównych.
- Rys. 30. Projekcja cech gatunków pszenic na płaszczyznę składowych głównych dla *R. solani* AG-5.
- Rys. 31. Klasyfikacja genotypów pszenic dla inokulacji *R. solani* AG-5 według składowych głównych.
- Rys. 32. Projekcja cech gatunków pszenic na płaszczyznę składowych głównych dla *R. solani* AG-11C.
- Rys. 33. Klasyfikacja genotypów pszenic dla inokulacji *R. solani* AG-11C według składowych głównych.

### 9.3. Tabele

- Tabela 1. Warunki pogodowe w trakcie trwania doświadczeń polowych w Stacji Badawczej WRiB w Mochelku.
- Tabela 2. Liczność dla indeksów chorobowych [%] obserwowana dla objawów chorobowych powodowanych przez *Rhizoctonia* w polowym doświadczeniu prowadzonym w warunkach prowokacyjnych w latach 2013–2014 oraz 2016–2017.
- Tabela 3. Nasilenie objawów chorobowych (DI w %) powodowanych przez *R. cerealis* AG-DI i *R. solani* AG-5 - test bibułowy.
- Tabela 4. Nasilenie objawów chorobowych na siewkach odmian pszenicy spowodowanych przez *R. cerealis* AG-DI w teście bibułowym.
- Tabela 5. Nasilenie objawów chorobowych na odmianach roślin pszenicy spowodowanych przez *R. solani* w teście bibułowym.
- Tabela 6. Procent roślin wybranych gatunków pszenicy z objawami porażenia przez różne genotypy *Rhizoctonia*.



- Tabela 7. Nasilenie objawów chorobowych na wybranych gatunkach pszenic powodowanych przez różne genotypy *Rhizoctonia* [DI w %] - doświadczenie wazonowe.
- Tabela 8. Średni stopień porażenia roślin wybranych gatunków pszenicy przez różne genotypy *Rhizoctonia* - doświadczenie wazonowe.
- Tabela 9. Świeża biomasa roślin [g·roślina<sup>-1</sup>] wybranych gatunków pszenicy w zależności od genotypu *Rhizoctonia* (doświadczenie wazonowe).
- Tabela 10. Świeża całkowita biomasa roślin [g] wybranych gatunków pszenicy w zależności od genotypu *Rhizoctonia* (doświadczenie wazonowe).
- Tabela 11. Wartości współczynników relatywnej intensywności interakcji (RII) w przeliczeniu na pojedynczą roślinę pszenic w zależności od genotypu *Rhizoctonia*.
- Tabela 12. Wartości współczynników relatywnej intensywności interakcji (RII) w odniesieniu do całkowitej uzyskanej biomasy w zależności od genotypu *Rhizoctonia*.
- Tabela 13. Aktywność chitynaz w tkance roślinnej wybranych gatunków pszenicy [nMol·h<sup>-1</sup>·g świeżej masy<sup>-1</sup>] w zależności od genotypu *Rhizoctonia*.
- Tabela 14. Aktywność chitynaz w tkance roślinnej wybranych gatunków pszenic [nMol·h<sup>-1</sup>·mg białka<sup>-1</sup>] w zależności od genotypu *Rhizoctonia*.
- Tabela 15. Aktywność glukanz w tkance roślinnej wybranych gatunków pszenicy [U nMol·h<sup>-1</sup>·g świeżej masy<sup>-1</sup>] w zależności od genotypu *Rhizoctonia*.
- Tabela 16. Aktywność glukanz w tkance roślinnej wybranych gatunków pszenic [nMol·h<sup>-1</sup>·mg białka<sup>-1</sup>] w zależności od genotypu *Rhizoctonia*.
- Tabela 17. Aktywność dysmutazy nadtlenkowej w tkance roślinnej wybranych gatunków pszenic [U·g świeżej masy<sup>-1</sup>] w zależności od genotypu *Rhizoctonia*.
- Tabela 18. Aktywność dysmutazy nadtlenkowej w tkance roślinnej wybranych gatunków pszenic [U·mg białka<sup>-1</sup>] w zależności od genotypu *Rhizoctonia*.
- Tabela 19. Zawartość wolnych cukrów [μg·g świeżej masy<sup>-1</sup>] w tkance roślin wybranych gatunków pszenic w zależności od genotypu *Rhizoctonia*.

## 10. ANEKS



Fot. 2. Rośliny pszenicy poddane działaniu patogenom z rodzaju *Rhizoctonia* – od lewej warianty kontrolne (1K-4K), warianty wystawione na działanie *R. solani* AG-11C (4.1–4.4) (autor: K. Lisiecki)



Fot. 3. Rośliny pszenicy poddane działaniu patogenów *R. solani* AG-11C (autor: K. Lisiecki)



Fot. 4. Objawy chorobowe na podstawie pędu pszenicy okrągłozłaznej spowodowane przez *R. solani* AG-11C (autor: K. Lisiecki)



Fot. 5. Rośliny pszenicy poddane działaniu patogenom z rodzaju *Rhizoctonia* – od lewej warianty kontrolne (1K-4K), warianty wystawione na działanie *R. solani* AG-5 (1.1–1.4) (autor: K. Lisiecki)



Fot. 6. Objawy chorobowe na podstawie pędu pszenicy okrągłoziałowej spowodowane przez *R. solani* AG-5 (autor: K. Lisiecki)



Fot. 7. Rośliny pszenicy poddane działaniu patogenom z rodzaju *Rhizoctonia* – od lewej warianty kontrolne (1K-4K), warianty wystawione na działanie *Rhizoctonia* AG-B0 (3.1-3.4) (autor: K. Lisiecki)



Fot. 8. Rośliny pszenicy poddane działaniu patogenom z rodzaju *Rhizoctonia* – od lewej warianty kontrolne (1K-4K), warianty wystawione na działanie *R. cerealis* AG-DI (2.1–2.4) (autor: K. Lisiecki)

## 11. STRESZCZENIE

### REAKCJA GENOTYPÓW PSZENICY (*Triticum aestivum* L.) NA PATOGENY Z RODZAJU *RHIZOCTONIA*

Produkcja roślinna stanowi podstawę egzystencji człowieka. Pozyskiwanie wysoko wartościowego pokarmu jest dzisiaj dużym problemem, gdyż uprawom roślin zagraża wiele niebezpieczeństw, zarówno o charakterze biotycznym jak i abiotycznym. Jednym z mechanizmów mogących przeciwdziałać temu jest postęp biologiczny. Uzyskanie oraz dobór odpowiedniego materiału biologicznego w kontekście upraw roślin pozwala na zmniejszenie strat ilościowych i jakościowych w plonie. Aby uzyskać wartościowy materiał genetyczny do dalszych procesów hodowlanych niezbędne jest odpowiednie sprofilowanie genotypów pod kątem wykazywanych mechanizmów obronnych. Celem niniejszej pracy było wyodrębnienie profilów biologicznych genotypów pszenicy w kontekście reakcji oraz ewentualnej obrony przeciwko patogenom z rodzaju *Rhizoctonia*.

Zbadano rozkład cech odporności w populacji genotypów pszenicy w badaniach polowych jak i laboratoryjnych. w testach polowych zaobserwowano, iż w warunkach prowokacyjnych 45% badanej populacji roślin wykazywało cechy odporności względem obu testowanych gatunków *Rhizoctonia* (*Rhizoctonia cerealis* AG-DI oraz *Rhizoctonia solani* AG-5), natomiast w warunkach laboratoryjnych 36% genotypów wykazywało podobne cechy oporności. Dodatkowo zaobserwowano, że takie odmiany jak Akrotos, Akteur, Almari, Altigo, Bamberka, Banderola, Crackin, Dorota, Drifter, Fidelius, Figura, Flairway, Forkida, Garantus, Kampana, Kohelia, Naridana, Natula, Nutka, Pegassos, Popstar, Rockystar, Sakwa, Slade wykazywały cechy oporności zarówno w doświadczeniach laboratoryjnych jak i polowych. Tym samym mogą stanowić wartościowy materiał w procesach hodowlanych.

Kolejnym etapem było scharakteryzowanie podłoża interakcji roślina-patogen. w tym celu przebadano różne genotypy (gatunki) pszenicy, tj. pszenicę zwyczajną (*Triticum aestivum* ssp. *aestivum*), pszenicę orkisz (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*), pszenicę perską (*Triticum persicum*), pszenicę okrągłoziaarnową (*Triticum sphaerococcum*), pszenicę twardą (*Triticum turgidum* ssp. *durum*) oraz ich wrażliwości na wybrane patogeny z rodzaju *Rhizoctonia*. w badaniach tych wykorzystano cztery izolaty *Rhizoctonia* należące do różnych grup anastomozowych, tj. *R. cerealis* AG-DI, *R. solani* AG-5, *R. solani* AG-11C oraz *Rhizoctonia* AG-B0. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że oba izolaty *R. solani* charakteryzowały się wysoką wirulencją wobec wszystkich badanych roślin. Oba patogeny miały silny wpływ na osiąganą biomasę roślin. Współczynnik relatywnej intensywności interakcji (RII) wskazywał na wysoce wirulentny

charakter tych patogenów wobec badanych genotypów pszenicy. Izolat *R. cerealis* AG-DI charakteryzował się mniejszą wirulencją i pasożytniczym charakterem wobec badanych roślin w porównaniu do *R. solani*. Natomiast izolat *Rhizoctonia* AG-B0 nie był wirulentny wobec badanych genotypów pszenicy. W przypadku tego izolatu nie obserwowano jakichkolwiek zmian chorobowych na badanych roślinach pszenic. RII wykazywał wartość dodatnią wskazującą na komensalny charakter interakcji. Symbiotyczne podłoże relacji dla tego izolatu pozostaje obiektem dalszych badań.

Przeprowadzone badania pozwoliły na częściowe scharakteryzowanie relacji pomiędzy roślinami i mikroorganizmami. Zaobserwowano, że w zależności od gatunku patogena rośliny uruchamiały różne mechanizmy obronne w zróżnicowanym stopniu. Największą aktywność chitynolityczną obserwowano w roślinach pszenicy okrągłoziałowej i pszenicy twardej. Oba wymienione gatunki charakteryzowały się wysoką aktywnością konstytutywną oraz w ekspozycji na wszystkie badane patogeny. Co istotne obserwowano również wysoką aktywność chitynaz w obecności szczepu niepatogenicznego *Rhizoctonia* AG-B0. Kwestia oddziaływania pobudzającego, czyli tzw. primingu pozostaje obiektem dalszych badań. Z kolei największą aktywnością glukanaz w tkankach roślin charakteryzowały się pszenica perska oraz pszenica twarda. Ekspozycja roślin na patogeniczne i niepatogeniczne mikroorganizmy powodowała wzrost obserwowanej aktywności w odniesieniu do roślin kontrolnych. Najmniejszą obserwowaną aktywnością charakteryzowały się rośliny pszenicy orkisz.

W przypadku dysmutazy ponadtlenkowej zaobserwowano, iż trzy genotypy tj. pszenica perska, pszenica okrągłoziałowa oraz pszenica twarda wykazywały największe aktywności w odpowiedzi zarówno na patogeny jak i niepatogeniczny szczep *Rhizoctonia* AG-B0. Natomiast analiza zawartości wolnych cukrów w tkankach roślin wykazała wysokie zawartości w tkankach roślin pszenicy okrągłoziałowej oraz twardej.

Wykonana analiza składowych głównych (PCA) wykazała zróżnicowanie uruchamianych mechanizmów obronnych w zależności od genotypu patogena. w przypadku ekspozycji roślin na *R. cerealis* AG-DI obserwowano, że aktywność chitynolityczna była zależna od aktywności specyficznej dysmutazy ponadtlenkowej oraz zawartości wolnych cukrów. Cechy te zorientowane były na płaszczyźnie składowej nr 2. Genotypem, który najmocniej reprezentował wymienione zależności (cechy) była pszenica okrągłoziałowa oraz w mniejszym stopniu pszenica twarda. Aktywność glukanaz zorientowana była na płaszczyźnie składowej nr 1 i najmocniej reprezentowana przez rośliny pszenicy perskiej. W przypadku *R. solani* AG-5 zaobserwowano podobną zależność aktywności chitynolitycznej od aktywności dysmutazy ponadtlenkowej, aczkolwiek z mniejszą zależnością od zawartości wolnych

cukrów. Wymienione cechy najmocniej reprezentowane były przez pszenicę okrągłozarnową. Analogiczna sytuacja miała miejsce w przypadku ekspozycji roślin na *R. solani* AG-11C. Ponownie aktywność chiynolityczna była blisko zorientowana z zawartością wolnych cukrów oraz w mniejszym stopniu z aktywnością dysmutazy ponadtlenkowej. Cechy te reprezentowane były w największym stopniu przez rośliny pszenicy okrągłozarnowej.

Właściwe scharakteryzowanie relacji roślina-patogen jest kluczowe w skutecznej ochronie roślin. Dzisiejszy nacisk na zmniejszenie stopnia chemizacji rolnictwa wymaga możliwie jak najlepszego poznania tejże relacji. Umożliwi to wytypowanie istotnych czynników mających wpływ na ochronę roślin. Czynniki te, przyjmujące postać molekularnych markerów obronnych, tj. peptydów, białek, enzymów czy metabolitów, a więc szlaków metabolicznych, mogą mieć kluczowe znaczenie w skutecznej ochronie przed patogenami. Właściwe sprofilowanie rośliny pod tym kątem pozwoli na określenie jej przydatności w procesach hodowlanych, które skutkowały będą nowymi, mniej wrażliwymi genotypami roślin uprawnych.



## 12. SUMMARY

### WHEAT (*Triticum aestivum* L.) GENOTYPE REACTION TO PATHOGENS OF THE *Rhizoctonia* GENUS

Plant production is the basis of human existence. Acquiring high-value food is a big problem today because there are many dangers to plant crops. Both biotic and abiotic, one of the mechanisms that can counteract this is biological progress. Obtaining and appropriate selection of the appropriate biological material in the context of plant cultivation allows to reduce losses caused by pathogens. In order to obtain valuable genetic material for further breeding processes, it is necessary to properly profile genotypes in terms of the demonstrated defense mechanisms. The aim of this study was to obtain the biological profiles of wheat genotypes in the context of the reaction and possible defense against *Rhizoctonia* pathogens.

The distribution of resistance traits in the population of wheat genotypes was examined in field and laboratory tests. In field tests, it was observed that 45% of the tested plant population showed resistance features in relation to both tested *Rhizoctonia* species (*Rhizoctonia cerealis* AG-DI and *Rhizoctonia solani* AG-5), while under laboratory conditions, 36% of the genotypes showed similar resistance characteristics. Additionally, it was observed that such cultivars as Akratos, Akteur, Almari, Altigo, Bamberka, Banderola, Crackin, Dorota, Drifter, Fidelius, Figura, Flairway, Forkida, Garantus, Kampana, Kohelia, Naridana, Natula, Nutka, Pegassos, Popstar, Rockystar, Sakwa, Slade showed features of resistance in both laboratory and field experiments. Thus, they can be a valuable material in breeding processes.

The next step was to characterize the basis of the plant-pathogen interaction. For this purpose, various genotypes (species) of wheat, that is common wheat (*Triticum aestivum* ssp. *aestivum*), spelt wheat (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*), Persian wheat (*Triticum persicum*), Indian dwarf wheat (*Triticum sphaerococcum*), durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. *durum*), and their sensitivity to selected pathogens of the *Rhizoctonia* genus were tested. Four strains of *Rhizoctonia* belonging to different anastomotic groups were used in these studies, i.e. *R. cerealis* AG-DI, *R. solani* AG-5, *R. solani* AG-IIC and *Rhizoctonia* AG-B0. As a result of the conducted research, it was found that both pathogens of the *R. solani* species were characterized by high virulence and parasitic nature in relation to all the tested plants. Both pathogens had a strong influence on the achievable plant biomass. The coefficient of relative interaction intensity (RII) showed a highly parasitic nature against the studied wheat genotypes. *R. cerealis* AG-DI was characterized by lower virulence and parasitic character against the plants tested in comparison to *R. solani*. On the other hand, the strain *Rhizoctonia* AG-B0 was not pathogenic against any of the tested plants. In the case of this strain, no lesions were observed among the plants of the tested genotypes. RII coefficient showed a positive value

indicating the commensal nature of the interaction. The symbiotic basis of the relationship for this strain remains the subject of further research.

The conducted research allowed to partially characterize the relationship between plants and microorganisms. It was observed that, depending on the species of the pathogen, plants activated different defense mechanisms to a varying degree. The highest chitinolytic activity was observed in round grain and durum wheat plants. Both of these species were characterized by high constitutive activity and exposure to all pathogens studied. Importantly, high chitinase activity was also observed in the presence of the non-pathogenic *Rhizoctonia* AG-B0 strain. The issue of stimulating influence, i.e. priming remains the subject of further research. In turn, Persian wheat and durum wheat were characterized by the highest activity of glucanases in plant tissues. Plant exposure to pathogenic and non-pathogenic microorganisms increased the observed activity in relation to control plants. Spelt wheat plants were characterized by the lowest observed activity.

In the case of superoxide dismutase, it was observed that three genotypes, i.e. Persian wheat, Indian dwarf wheat and durum wheat, showed the greatest activity in response to both pathogens and the non-pathogenic *Rhizoctonia* AG-B0 strain. On the other hand, the analysis of the content of free sugars in plant tissues showed high levels in the tissues of Indian dwarf wheat and durum wheat plants.

The performed principal components analysis (PCA) showed differentiation of the triggered defense mechanisms depending on the genotype of the pathogen. When plants were exposed to *R. cerealis* AG-DI, it was observed that the chitinolytic activity was dependent on the superoxide dismutase specific activity and the content of free sugars. These features were oriented on the second component plane. Indian dwarf wheat was the genotype that most strongly represented the above-mentioned relationships (features) and, to a lesser extent, durum wheat. The activity of glucanases was oriented on the first component plane and was most strongly represented by the Persian wheat plants. In the case of the pathogen of the species *R. solani* AG-5, a similar dependence of chitinolytic activity on the activity of superoxide dismutase was observed, albeit with a lower dependence on the content of free sugars. The listed features were most strongly represented by Indian dwarf wheat. a similar situation occurred in the case of plant exposure to *R. solani* AG-11C. Again, the chitinolytic activity was closely oriented to the content of free sugars and to a lesser extent to the activity of superoxide dismutase. Again, these traits were represented to the greatest extent by the Indian dwarf wheat plants.

Proper characterization of the plant-pathogen relationship is crucial for effective plant protection. Today's emphasis on reducing the degree of chemicals in agriculture requires the best possible understanding of this relationship. This will make it possible to select important factors having a significant impact on plant protection. These factors, taking the form of molecular defense markers, i.e. peptides, proteins, enzymes or metabolites, and

therefore metabolic pathways, may be of key importance in the effective fight against pathogens. Proper profiling of the plant in this respect will allow to determine its usefulness in breeding processes, which will result in new, more resistant genotypes of crops.

### ***Rhizoctonia***