

UNELE ASPECTE ALE AMELIORĂRII REZISTENȚEI GRĂULUI LA RUGINA BRUNĂ ÎN CONTEXTUL SCHIMBĂRILOR CLIMATICE

APPROACHES TO BREEDING FOR RESISTANCE TO LEAF RUST IN WHEAT UNDER CLIMATE CHANGES

MARIANA ITTU¹ ȘI GHEORGHE ITTU¹

Abstract

Leaf rust caused by *Puccinia triticina* Eriks. is a globally distributed disease of economic concern that can be controlled in wheat by effective deployment of rust resistance genes that are race specific. Under hazardous climate change a shift to breeding of partial, non-specific, adult plant resistance (APR), believed to confer more durability is a realistic approach in breeding of wheat.

Analysis of host/pathogen interactions under field artificial inoculations recorded over 21 years and preliminary results of assessment trials for partial resistance, type *slow rusting*, at NARDI-Fundulea are presented. Significant correlation between disease index ($DI = F \times I/100$), medium temperature ($r = 0.55^{**}$) and total rainfall ($r = -0.42^*$), respectively were found. Wheat varieties Delabrad, Alex, Gruia, Fundulea 4, Glosa and Ariesan expressed a slower evolution of leaf rust symptoms over 60 days post inoculation, but further validation with molecular markers is necessary.

Key words: *Triticum aestivum*, *Puccinia triticina*, leaf rust, partial resistance, artificial inoculation, mean temperature, total rainfall.

Cuvinte cheie: *Triticum aestivum*, *Puccinia triticina*, rugină brună, rezistența parțială, infecție artificială, temperatura medie, suma precipitațiilor.

INTRODUCERE

Coexistența îndelungată a plantelor de cultură cu patogenii care le sunt specifici este marcată de un proces permanent de evoluție. În cadrul așa-numitului *triunghi al bolii*, paradigmă conform căreia starea de boală este rezultanta triplei interacțiuni dintre condițiile favorabile de mediu x sensibilitatea gazdei x virulența patogenului, factorul climatic este determinant. Astfel, în cultura grâului, dar și a altor plante agricole, patogenii obligați cu transmitere aeriană (rugini, făinări, pătări foliare) sunt în mod deosebit afectați de schimbările climatice. Capacitatea ridicată de evoluție a acestora, manifestată prin apariția continuă de rase noi, care anulează eficacitatea genelor de rezistență (R) ale plantei gazdă după utilizare intensă, precum și cea de migrare la mari distanțe, pot determina pierderi economice considerabile.

¹ I.N.C.D.A. Fundulea, județul Călărași. E-mail: ittum@ricic.ro

Schimbările climatice alături de implicațiile negative ale unor activități umane reduc și mai mult posibilitățile de a estima, pe termen mediu și lung, evoluția patosistemelor, impactul bolilor și aplicarea eficientă a măsurilor de prevenire și combatere a pagubelor pe care acestea le produc în culturile agricole. Totuși, se anticipează că hazardul acestor schimbări se va intensifica în acele regiuni de pe glob unde sunt premise pentru încălzirea climei, reducerea/creșterea cantității de precipitații, schimbarea circulației curenților de aer etc. Astfel, scenariile bazate pe modele climatice realizate până în prezent includ o serie de evenimente ale căror efecte potențiale asupra interacțiunilor plantă gazdă/patogen au fost descrise în detaliu (Rosenzweig și colab., 2000). Validitatea acestora a fost deja confirmată pentru unele patosisteme, în urma evaluării datelor istorice privind frecvența și intensitatea epidemiilor. Astfel, se apreciază că modificarea migrației raselor de rugină galbenă (*Puccinia striiformis*) Yr 2 și Yr 9, înregistrată în ultimii ani din Turcia în Pakistan și, respectiv, a rasei Yr 9 din Africa de est spre subcontinentul indian (Singh și colab., 2005) a fost posibilă datorită schimbărilor survenite la unii parametrii climatici. În Marea Britanie, încălzirea climei este considerată drept principalul factor implicat în reducerea arealului de răspândire a atacului de fâinare la grâu, în timp ce frecvența altor boli este în creștere (ex.: fuzarioza) din același motiv (Gosman și colab., 2007). Apariția în Uganda a noii rase de rugina neagră, Ug 99, a evidențiat riscul reemergenței acestei boli după o perioadă de 30 de ani în care nu a produs daune importante. Datorită nivelului ridicat de agresivitate, capacitate de mutație și migrație ale acestei rase și posibil sub influența schimbărilor climatice, sunt estimate pierderi potențiale de recoltă care pot atinge niveluri de până la 20%, în cazul în care vor fi afectate și marile bazine de producție a grâului din: Turcia, Iran etc. Ca principiu general, se apreciază că după apariția unei noi virulențe în populațiile de *Puccinia*, răspândirea acesteia pe suprafețe mari și eliminarea din cultură a soiurilor purtătoare ale genelor de rezistență eficace anterior constituie doar o problemă de timp (Jin și Singh, 2006).

În acest context, indiferent de tendințele de evoluție ale patogenilor, globale și/sau pe plan local, introducerea în cultură a unor soiuri cu nivel ridicat și stabil de rezistență, create prin metode convenționale și moleculare, reprezintă componenta de bază a strategiilor nepoluante de reducere/combateră a riscurilor produse de boli în culturile de grâu și alte cereale.

Prin magnitudinea pagubelor economice și a răspândirii pe glob, rugina brună produsă de *Puccinia triticina* Eriks. este considerată principala boală a grâului, care limitează realizarea potențialului genetic al soiurilor aflate în cultură, prin reducerea umplerii boabelor, a utilizării eficiente a radiației solare etc. De asemenea, este unul dintre cei mai studiați patogeni, majoritatea principiilor moderne de rezistență la boli fiind postulate având ca model patosistemul *Triticum aestivum*/*P. triticina*.

Până în prezent au fost cartate la grâu, peste 60 de gene de rezistență la rugina brună (*Lr*). Majoritatea acestora se manifestă în stadiul de plantulă, printr-o reacție de specificitate față de rasele de *Puccinia triticina*, exprimată prin dezvoltarea de necroze și/sau cloroze în jurul leziunii (McIntosh și colab.,

1995), ceea ce determină utilizarea lor pe termen limitat în soiurile cultivate. Din acest motiv și în contextul schimbărilor climatice, interesul amelioratorilor de grâu s-a îndreptat în ultimii ani spre rezistența parțială, cantitativă, nespecifică față de rasele patogenului, de plantă adultă (adult plant resistance, APR), conferită de genele *Lr 34*, *Lr 46* și *Lr 67* (Dyck, 1987; Singh și colab., 1998; Hiebert și colab., 2010). Acest tip de rezistență este considerat mai atractiv, comparativ cu rezistența totală (*imunitate*), datorită nivelului mai ridicat de durabilitate pe care-l conferă (William și colab., 2003; Rosewarne și colab., 2006). La genele *Lr 34* și *Lr 46*, rezistența parțială la rugina brună este asociată cu necroza vârfului frunzei steag, precum și cu rezistența la rugina galbenă (genele *Yr 18* și *Yr 29*) și, respectiv, făinare (*Pm 38* și *Pm 39*) (Spelmeyer și colab., 2005; Lillmo și colab., 2008). În soiul Thatcher, gena *Lr 34* conferă și rezistență la rugina neagră (Dyck, 1987). Gena de rezistență de plantă adultă, identificată la linia RL 6077 (*Thatcher*6/PI250413*) cu ajutorul markerilor SSR, *cfp71* și *cfp23*, pe cromozomul *4DL*, a fost desemnată drept gena *Lr 67*. Din punct de vedere fenotipic, gena *Lr 67* este similară cu gena *Lr 34* localizată pe cromozomul *7D*, dar genotipic este diferită de aceasta (Hiebert și colab., 2010). Identificarea și piramidarea genelor de rezistență parțială, *Lr 34* și *Lr 46*, în noile soiuri de grâu este posibilă datorită identificării unor markeri moleculari robuști (Lagudah și colab., 2009).

În cadrul programului de ameliorare a grâului care se desfășoară la I.N.C.D.A. Fundulea, îmbunătățirea nivelului de rezistență la rugina brună reprezintă un obiectiv important și permanent. Evoluția patogenului și schimbările climatice înregistrate la nivel global impun necesitatea adaptării metodologiei specifice de testare și selecție pentru rezistența la rugina brună, la tendințele locale ale acestor parametri. Având în vedere aceste deziderate, obiectivele acestui studiu au fost: i) caracterizarea reacției de rezistență la rugina brună (*Puccinia triticina*) a germoplasmei de grâu, în raport cu evoluția temperaturii și a regimului de precipitații, înregistrat la I.N.C.D.A. Fundulea în perioada 1991-2010; ii) investigarea posibilității de introducere în programul de ameliorare rezistenței la rugina brună a sistemului de fenotipare specific rezistenței parțiale de tip *slow rusting*, în vederea diversificării actualelor surse de rezistență și abordării selecției asistate de markeri moleculari.

MATERIALUL ȘI METODA DE CERCETARE

Datele climatice. S-a analizat evoluția temperaturilor medii și suma precipitațiilor din perioadele critice pentru manifestarea atacului de rugină brună (martie - iunie), pe baza datelor înregistrate în perioada 1991-2010, pentru acești parametri la Stația meteo a I.N.C.D.A. Fundulea (coordonator ing. R. Gargariță).

Testarea rezistenței (1991-2010). Infecțiile artificiale s-au efectuat în câmpurile experimentale de la I.N.C.D.A. Fundulea în stadiul de înfrățire, Z25-Z30 (Zadoks și colab., 1974). Inoculul a constat dintr-un amestec de uredospori: talc (1:5), aplicat pe frunzele a 2-3 plante/rând, cu ajutorul unor recipiente metalice prevăzute cu site, infecția fiind urmată de stropirea cu apă și Tween 20

(0,1 ml%). Incubația s-a realizat prin izolarea plantelor cu pungi de plastic timp de 24 ore. Declanșarea și dezvoltarea atacului după trecerea acestui interval s-a realizat numai în condiții naturale, fără irigare suplimentară. Pentru uniformizarea infecției s-au utilizat soiuri sensibile (*spreader*) semănate în rânduri intercalate la fiecare grupare de 10 genotipuri, precum și în benzi transversale între blocuri.

Gradul de atac ($G_A = \frac{F \times I}{100}$) a fost apreciat în stadiul de umplerea boabelor

(Z73-75), în perioada de manifestare maximă (aproximativ la 60 de zile post-inoculare), intensitatea atacului fiind exprimată procentual, în funcție de gradul de acoperire a frunzelor cu leziuni de rugină brună (pustule). În fiecare ciclu de vegetație s-au analizat între 500 și 1000 genotipuri de grâu aflate în diferite stadii de ameliorare.

Modelul experimental adoptat în anul 2008, pentru diferențierea fenotipică a rezistenței parțiale, de tip *slow rusting*, la 13 genotipuri românești de grâu, comparativ cu un martor de sensibilitate, a constat din asigurarea unei presiuni mari de infecție, fiecare genotip de grâu testat fiind încadrat între două rânduri de *spreader*. Aprecierea vizuală a intensității atacului s-a efectuat periodic începând de la apariția primelor simptome și până la generalizarea infecției, respectiv: 30.04; 9.05; 27.05 și 12.06.

REZULTATE

Temperatura medie și suma precipitațiilor. În perioada analizată, temperatura medie în intervalul martie - iunie a variat între 12,1°C (1994) și 15,6°C (2008), iar suma precipitațiilor (SP) înregistrate în luna aprilie - între 78,3 mm (2007) și 455,8 mm (1991) (tabelul 1). Diferențele celor doi parametri față de mediile multianuale (50 de ani) evidențiază o creștere a temperaturii în medie cu 0,8°C în perioada 2001-2010, comparativ cu cea anterioară (1991-2000), când abaterile față de media multianuală au fost în medie de numai 0,2°C. În același interval de timp, abaterile anuale înregistrate pentru suma precipitațiilor față de media multianuală au variat în medie de la +21,5 la -20,2 mm (1991-2000), în anul 2007 fiind înregistrat un deficit de -135,1 mm.

Tabelul 1

**Temperatura medie (°C) și suma precipitațiilor (mm) în perioada 1991-2010
la I.N.C.D.A.Fundulea (valori medii, lunile martie - iunie)**
Average temperature (°C) and total rainfall (mm) over 1991-2010 at NARDI Fundulea
(mean values, March-June)

Anul	Temperatura medie °C		Suma precipitațiilor mm	
	Media	Diferența	Media	Diferența
<i>Media 50 ani</i>	13,3		213,4	
1991	14,2	0,9	455,8	242,4
1992	12,3	-1,1	202,3	-11,1
1993	13,2	-0,2	236,7	23,3
1994	12,1	-1,2	227,2	13,8

Tabelul 1 (continuare)

1995	15,1	1,8	168,3	-45,1
1996	13,7	0,4	147,9	-65,5
1997	13,0	-0,4	314,7	101,3
1998	12,6	-0,7	206,8	-6,6
1999	13,8	0,5	241,1	27,7
<i>Media</i>	<i>13,5</i>	<i>0,2</i>	<i>234,9</i>	<i>21,5</i>
2000	14,2	0,9	148,1	-65,3
2001	14,9	1,6	281,1	67,7
2002	13,6	0,3	151,2	-62,2
2003	14,9	1,6	128,8	-84,6
2004	14,2	0,9	183,1	-30,3
2005	13,5	0,2	295,6	82,2
2006	12,8	-0,5	231,3	17,9
2007	13,8	0,5	78,3	-135,1
2008	15,6	2,3	173,5	-39,9
2009	14,9	1,6	193,8	-19,6
2010	14,2	0,9	215,8	2,4
<i>Media</i>	<i>14,1</i>	<i>0,8</i>	<i>193,3</i>	<i>-20,2</i>

Gradul de atac. Gradul de atac evaluat în stadiul de manifestare maximă a bolii a variat între 4,0 și 56,3% (media = 32,9) în primii 10 ani ai intervalului analizat și între 3,6 și 35,1% (20,8), în perioada 2001-2010 (figura 1).

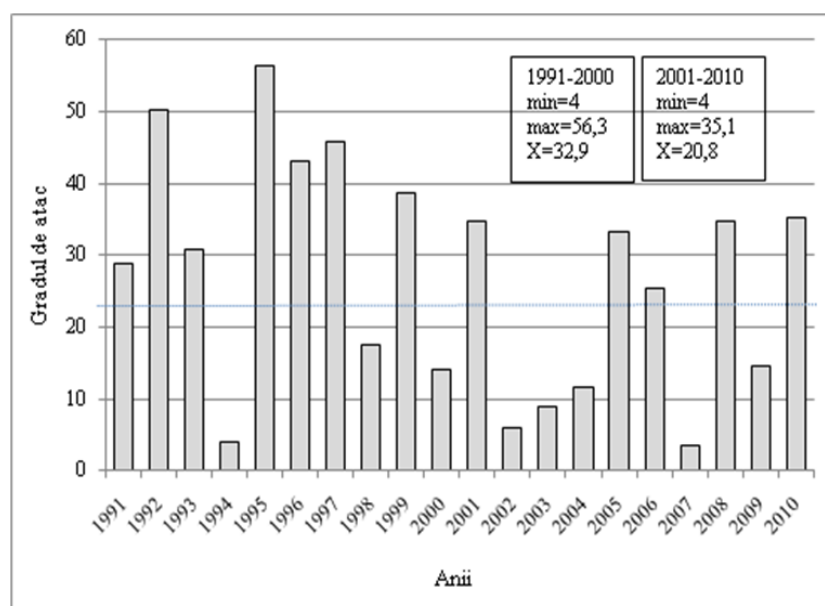


Fig. 1 – Variabilitatea atacului de rugina brună la I.N.C.D.A. Fundulea în condiții de infecție artificială (Gradul de atac, valori medii, 1991-2010)
(Variation of leaf rust attack at NARDI Fundulea under artificial inoculations; disease index, mean values, 1991-2010)

Corelațiile semnificative identificate între gradul de atac (GA) și valorile corespunzătoare pentru temperaturile medii ($r = -0,55^{**}$) și suma precipitațiilor ($r = 0,42^*$), înregistrate în lunile martie – iunie (figura 2a) și, respectiv, luna aprilie (figura 2b), sugerează că încălzirea climei și reducerea cantității de precipitații au influențat nivelul de infecție indus pe cale artificială, în condiții de câmp. Extrapolând, se poate specula că nivelul sporadic al atacului de rugină brună, înregistrat în ultimii ani la I.N.C.D.A. Fundulea și în condiții de infecție naturală, este, probabil, determinat și de interacțiunea dintre planta gazdă/patogen și acești factori climatici.

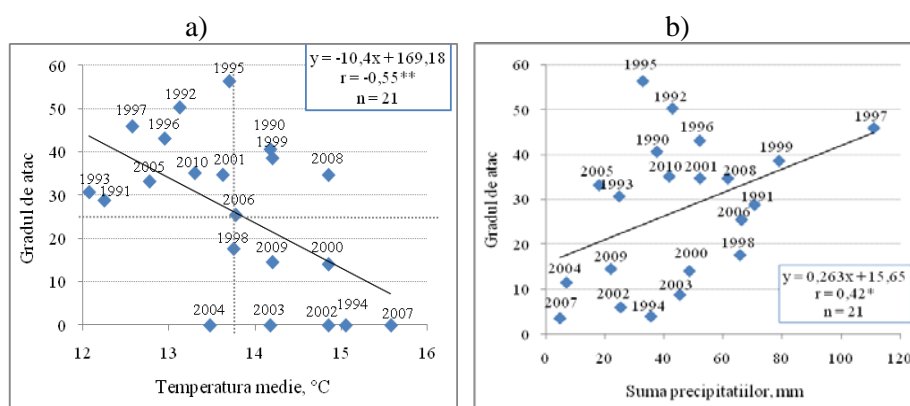


Fig. 2 – Corelațiile dintre valorile înregistrate pentru gradul de atac și : (a) temperaturile medii și, respectiv, (b) suma precipitațiilor înregistrate în perioada 1991-2010 (martie - iunie).
[Correlations between the disease index and: a) average temperatures and b) total rainfall (April) over 21 years (1991-2010, from March to June)]

Lipsa, în unele cicluri de vegetație, a condițiilor optime pentru manifestarea atacului poate determina un decalaj în ceea ce privește momentul emergenței și cel al depistării unor noi virulențe în populația patogenului și, respectiv, al pierderii eficienței unor gene de rezistență, pe plan local.

Selecți și introducerea în materialul autohton de ameliorarea grâului a unor surse de rezistență parțială la rugina brună pot contribui la reducerea pierderilor, diversificarea și mărirea durabilității tipurilor de rezistență utilizate în prezent.

Aprecierea evoluției atacului de rugina brună, în condiții de presiune ridicată de infecție, a evidențiat diferențe între cele 13 genotipuri analizate, pe baza cărora au fost stabilite următoarele categorii de reacție: a) intensitate scăzută de atac (<20%) până la sfârșitul perioadei de evaluare (genotipurile Izvor, Faur, Dor), b) evoluție relativ lentă asociată cu o intensitate de atac de <50% (Delabrad, Alex, Gruia, Fundulea 4, Glosa și Arieșan), precum și c) sensibilitate, respectiv evoluție rapidă asociată cu acoperirea întregii suprafețe foliare cu leziuni (Flamura 85, Dropia, Boema, Albota) (figura 3). Niciunul dintre aceste genotipuri nu a evidențiat anterior o reacție de rezistență în faza de plantulă (*date ne prezentate*). Rezultatele obținute demonstrează aplicabilitatea acestui model ex-

perimental pentru fenotiparea pe scară largă a rezistenței de tip *slow rusting* în germoplasma autohtonă de ameliorarea grâului. Pentru validare, se impune însă utilizarea markerilor moleculari asociați genei specifice *Lr 34*, intens utilizată în programul de ameliorarea grâului de la I.N.C.D.A. Fundulea și evidențiată în numeroase genotipuri românești de grâu cu reacție diferită de rezistență la rugina brună (Ittu și colab., 2000). De asemenea, se preconizează și introducerea genelor *Lr 46* și *Lr 67*, care controlează rezistența parțială de plantă adultă la rugina brună.

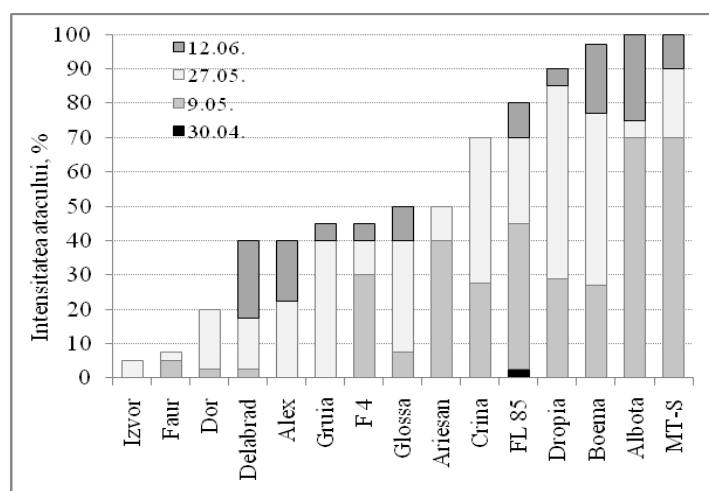


Fig. 3 – Evoluția atacului de rugină brună înregistrată în condiții de presiune ridicată de infecție artificială (Fundulea, 2008, patru evaluări, valori medii două repetiții)
(Evolution of leaf rust attack under high pressure of artificial inoculation, four scorings, mean values, two replications)

CONCLUZII

□ Evaluarea factorilor climatici care favorizează evoluția atacului de rugină brună (*P. triticina*) este o condiție preliminară pentru îmbunătățirea strategiei de ameliorarea rezistenței față de acest patogen.

□ Analizarea datelor privind manifestarea atacului de rugină brună în raport cu evoluția temperaturii și a regimului de precipitații a evidențiat, în perioada 2000-2010, la I.N.C.D.A. Fundulea, o reducere a frecvenței condițiilor optime pentru manifestarea bolii.

□ Utilizarea rezistenței parțiale, nespecifice, de plantă adultă, reprezintă premisa pentru mărirea durabilității rezistenței la acest patogen, independent de evoluția climei și a virulenței acestuia.

□ În materialul autohton de ameliorarea grâului au fost identificate genotipuri cu reacție fenotipică de rezistență parțială, tip *slow rusting*, pentru validarea prezenței genelor specifice cunoscute, fiind necesară abordarea cercetărilor pe baza markerilor moleculari specifici.

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

- DYCK, P.L. 1987 – *The association of a gene for leaf rust resistance with the chromosome 7D suppressor of stem rust resistance in common wheat*. Genome, 29: 467-469.
- GOSMAN, N., BAYLES, R., JENNINGS, P., KIRBY, J., NICHOLSON P., 2007 – *Evaluation and characterization of resistance to fusarium head blight caused by Fusarium culmorum in UK winter wheat cultivars*. Plant Pathology, 56: 264-276.
- HIEBERT, C.W., THOMAS, J. B., MCCALLUM, B. D., HUMPHREYS, D. G., DEPAUW, R. M., HAYDEN, M. J., MAGO, R., SCHIPPENKOETTER, W., 2010 – *An introgression on wheat chromosome 4DL in RL 6077 (Thatcher*6/PI 250413) confers adult plant resistance to stripe rust and leaf rust (Lr 67)*. TAG: DOI: 10.1007/s00122-010-1373-y.
- ITTU, M., SĂULESCU, N. N., ITTU, G., 2000 – *Tipuri și factori de rezistență la boli utilizați în programul de ameliorarea grâului de la I.C.C.P.T. Fundulea*. Analele ICCPT-Fundulea, LXII: 35-45.
- JIN, Y, SINGH, R.P., 2006 – *Resistance in US wheat to recent Eastern African isolates of Puccinia graminis f. sp. tritici with virulence to resistance gene Sr31*. Plant Disease, 90: 476-480
- LAGUDAH, E. S., KRATTINGER, S. G., HERREREA-FOESSEL, S., SIGH, R.P., HUERTA-ESPINO, J., SPIELMEYER, W, BROWN-GUEDIRA, G., SELTE, R. L. L, KELLER, B., 2009 – *Gene-specific markers for the wheat gene Lr 34/Yr 18/Pm 38 which confers resistance to multiple fungal pathogens*. Theor. Appl. Genet., 119: 889-898
- LILLEMO, M., ASALF, B, SINGH, R.P, HUERTA-ESPINO, J., CHEN, X., HE, Z., BJØRNSTAD, A., 2008 – *The adult plant rust resistance loci Lr 34/Yr 18 and Lr 46/Yr29 are important determinants of partial resistance to powdery mildew in bread wheat line Saar*. Theor. Appl. Genet., 116: 1155-1166.
- McINTOSH, R.A., WELLINGS, C.R., PARK, R.F., 1995 – *Wheat rusts: an atlas of resistance genes*. CSIRO Publications, East Melbourne.
- ROSENZWEIG, C., IGLESIAS, A., YANG, X.B., EPSTEIN, P.R., CHIVIAN, E., 2000 – *Climate Change and U.S. Agriculture: The Impacts of Warming and Extreme Weather Events on Productivity*. Plant Diseases, and Pests www.med.harvard.edu/chge
- ROSEWARNE, G.M., SINGH, R.P., HUERTA-ESPINO, J., WILLIAM, H.M., BOUCHET, S., CLOUTIER, S., MCFADDEN, H., LAGUDAH, E.S., 2006 – *Leaf tip necrosis, molecular markers and β 1-proteasome subunits associated with the slow-rusting resistance genes Lr46/Yr 29*. Theor. Appl. Genet., 112: 500-508.
- SINGH, R.P., MUJEEB-KAZI, A., HUERTA-ESPINO, J., 1998 – *Lr 46: a gene conferring slow-rusting resistance to leaf rust in wheat*. Phytopathology, 88: 890-894.
- SINGH, R.P, WILLIAM, H.M., HUERTA-ESPINO, J., ROSEWARNE, G., 2005 – *Wheat rust in Asia: meeting the challenges with old and new technologies*. Proceedings of the 4th International Crop Science Congress, Brisbane, Australia, 26 Sep.–1 Oct. 2004.
- SPIELMEYER, W., McINTOSH, R.A, KOLMER, J., LAGUDAH, E.S., 2005 – *Powdery mildew resistance is associated with durable leaf rust and stripe rust resistance genes Lr 34/Yr18 and maps to a single locus on the short arm of chromosome 7D of wheat*. Theor. Appl. Genet., 111: 731-735.
- WILLIAM, M, SINGH, R.P., HUERTA-ESPINO, J., ORTIZ ISLAS, S., HOISINGTON, D., 2003 – *Molecular marker mapping of leaf rust resistance gene Lr 46 and its association with stripe rust resistance gene Yr 29 in wheat*. Phytopathology, 93: 153-159.
- ZADOKS, J.C., CHANG, T.T., KONZAK, C.F., 1974 – *A Decimal Code for the Growth Stages of Cereals*. Weed Research, 14 : 415-421.