

ELŻBIETA CZEMBOR
MAGDALENA MATUSIAK
PIOTR OCHODZKI

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — PIB, Radzików

Odporność mieszańców kukurydzy na fuzariozę kolb powodowaną przez *Fusarium graminearum* i *F. verticillioides* w Polsce w latach 2008–2009*

Resistance of maize hybrids to ear rot caused by *Fusarium graminearum* and *F. verticillioides* in Poland in years 2008–2009

Fuzarioza kolb kukurydzy powodowana przez grzyby z rodzaju *Fusarium* spp. należy do groźnych chorób tej rośliny. W ostatnich latach, obserwowane jest nasilenie tej choroby również na plantacjach w Polsce. Hodowla odpornościowa opierająca się na nowych źródłach odporności jest jedyną i najbardziej ekologiczną metodą umożliwiającą ograniczenie rozprzestrzeniania się tej choroby. Dlatego w latach 2008–2009 prowadzono ocenę stopnia odporności zróżnicowanych fenologicznie i morfologicznie mieszańców kukurydzy na fuzariozę kolb na podstawie oceny objawów fenotypowych choroby przy infekcji naturalnej w trzech lokalizacjach: Radzików, Smolice i Kobierzycy, po zakażeniach zawiesiną zarodników *F. graminearum* i *F. verticillioides* w Radzikowie oraz na podstawie zdolności do akumulacji DON i fumonizyn. Dodatkowo oceniono stopień odporności badanych mieszańców na zgorzel podstawy łodygi przy infekcji naturalnej. Przy infekcji naturalnej, w Radzikowie i Smolicach, zróżnicowanie dla stopnia odporności na fuzariozę kolb oraz zawartości toksyn w próbkach ziarna było niewielkie, natomiast w Kobierzycach porażenie roślin było silniejsze. Zakażenia sztuczne umożliwiły zróżnicowanie materiału roślinnego pod względem stopnia odporności na fuzariozę kolb. Zarówno w 2008, jak i w 2009 roku dodatnie współzależności pomiędzy ocenami odporności na fuzariozę kolb a zawartością DON i fumonizyn w badanych próbkach ziarna były statystycznie istotne. Współzależności pomiędzy ocenami stopnia odporności na fuzariozę kolb i zawartością toksyn w próbkach ziarna a stopniem odporności na zgorzel podstawy łodygi były ujemne. Wyniki ocen uzyskane po zakażeniu sztucznym ziarniaków poprzez ich mechaniczne uszkodzenie bardziej korespondowały do wyników uzyskanych przy infekcji naturalnej niż wyniki ocen uzyskane po zakażeniu sztucznym poprzez iniekcję zarodników grzybów do kanału kolby wzdłuż słupków.

* Wyniki badań uzyskane w ramach zadania 6.6 Programu Wieloletniego IHAR-PIB „Ulepszanie Roślin dla Zrównoważonych AgroEkoSystemów, Wysokiej Jakości Żywności i Produkcji Roślinnej na Cele Nieżywnościowe” finansowanego przez MRiRW

Słowa kluczowe: fuzarioza kolb, *Fusarium graminearum*, *Fusarium verticillioides*, kukurydza, zgorzel podstawy łodygi

Red and pink ear rot diseases are the most economically significant diseases of maize. Infection by *Fusarium* spp. results not only in yield reduction but also in contamination with mycotoxins. Breeding for resistance is the best method to control this disease. Therefore, in the years 2008–2009 ear rot resistance of maize hybrids was evaluated based on the phenotypic symptoms under natural infection in three locations: Radzików, Smolice and Kobierzyce and after inoculation with *F. graminearum* and *F. verticillioides* in Radzików and based on the ability to DON and fumonisins accumulation. Under natural infection, in Radzików and Smolice, the levels of the disease and toxins contents were low. In Kobierzyce the level of the disease was higher. After inoculation, the differences between hybrids in ear rot resistance were significant. In 2008 and 2009 correlation between ear rot symptoms and toxins content was positive and significant. Correlations between ear rot resistance and stalk rot resistance were negative. In comparison to the results obtained after silk channel inoculation, results obtained after kernel inoculation more significantly correlated to the results obtained under natural infection.

Key words: ear rot, *Fusarium graminearum*, *Fusarium verticillioides*, maize, stalk rot

WSTĘP

Kukurydza jest trzecią rośliną uprawną, po pszenicy i ryżu, natomiast pod względem wysokości plonów zajmuje pierwsze miejsce na świecie. Jej udział w światowej powierzchni uprawy zbóż wynosi ponad 20%, a pod względem produkcji około 30%. Kukurydza charakteryzuje się wysokimi plonami ziarna powyżej 10 t/ha i około 20 t/ha suchej masy w uprawie na kiszonkę. Jak podaje GUS, w Polsce w 2012 roku, powierzchnia uprawy tej rośliny przekroczyła 1 mln ha. Ogólna powierzchnia uprawy z przeznaczeniem na ziarno wzrosła o 63,1% w stosunku do 2011 roku osiągając 543,8 tys. ha. Natomiast powierzchnia uprawy kukurydzy z przeznaczeniem na zielonkę osiągnęła 507,6 tys. ha. Tak duży wzrost był spowodowany koniecznością przesiewania ozimin, które uległy zniszczeniu z powodu niekorzystnego przebiegu warunków pogodowych. Według danych GUS, plony ziarna wynosiły średnio 73,5 dt/ha, i były wyższe o 1,7 dt/ha w stosunku do roku poprzedniego.

Jednak w ostatnich latach jednym z podstawowych czynników decydujących o wartości gospodarczej kukurydzy, obok wysokości plonu ziarna, jest jego jakość. Na te składowe plonu bardzo duży wpływ ma fuzarioza kolb. Choroba ta powodowana jest przez grzyby z rodzaju *Fusarium* spp., których metabolity wtórne są szkodliwe dla ludzi i zwierząt (Harrison i in., 1990; Pestka i Bondy, 1994; Logrieco i in., 2002; CAST 2003; Munkvold, 2003; Voss i in., 2006). Najczęściej sprawcą fuzariozy kolb jest *F. graminearum* (produkujące deoksyniwalenol — DON i zearalenon — ZEA) oraz *F. verticillioides* (produkujące fumonizyny — FBs). Deoksyniwalenol powoduje utratę łaknienia, biegunki, owrzodzenia jamy ustnej lub zmiany martwicze skóry (Canady, 2001), zearalenon — zaburzenia płodności, zaburzenia hormonalne oraz ma ujemny wpływ na wzrost i rozwój gruczołu mlekowego (Szuets i in., 1997) a fumonizyny powodują obrzęki płuc trzody chlewnej, nowotwory wątroby, uszkodzenia mózgu koni a nawet bezwład ruchowy (Rheeder i in., 1992; Bhat i in., 1997; Bolger i in., 2001). Na południu Europy głównym sprawcą fuzariozy kolb jest *F. verticillioides* i *F. proliferatum*, natomiast na północy Europy *F. graminearum*. W Polsce, podobnie jak i na Węgrzech, w latach z małą ilości

opadów gatunki powodujące fuzariozę kolb są takie jak na południu Europy a w latach mokrych takie jak na północy (Mesterhazy i in., 2012; Czembor i in., 2011; Czembor i Matusiak, 2013). Dla przykładu, Czembor i in. (2011) stwierdzili, że w latach 2002–2004 grzybem występującym z najwyższą częstotliwością był *F. graminearum*. Wysokie temperatury w latach 2005 i 2006 spowodowały, że w populacji zaczęły dominować grzyby z sekcji *Lisolea* — *F. verticillioides* i *F. proliferatum*. Natomiast w próbkach ziarna pobranych w latach 2009–2011 powtórnie głównym sprawcą fuzariozy kolb był *F. graminearum*. Stwierdzono zróżnicowanie w patogeniczności pomiędzy gatunkami i agresywności pomiędzy izolatami w obrębie określonego gatunku. Izolaty *F. graminearum* są znacznie bardziej agresywne niż *F. verticillioides* (i inne należące do sekcji *Lisolea*). Wprawdzie wykazano, że *F. graminearum* posiada różne geny w pewnym stopniu świadczące o ich agresywności/patogeniczności, jednak nie są one w sposób jasny opisane i nie mogą być brane pod uwagę w programach hodowlanych (Dufresne i in., 2008). Charakterystyka izolatów prowadzona jest zazwyczaj na podstawie oceny fenotypowej stopnia porażenia wybranych genotypów o zróżnicowanym stopniu odporności, oraz na podstawie zdolności tych izolatów do produkcji toksyn. Duże zróżnicowanie w kolekcji izolatów *F. graminearum* wyosobnionych na przestrzeni kilku lat z pszenicy dla ich agresywności i produkcji DON opisali Mesterhazy (2002) oraz Mesterhazy i in. (1999). Dodatkowo Mesterhazy i in. (1999) stwierdzili, że produkcja DON przez izolaty *F. graminearum* wyosobnione z pszenicy może być wskaźnikiem ich patogeniczności. Garcia i in. (2009) stwierdzili, że zawartość toksyn w ziarnie zależy właśnie od izolatów grzyba jakie go zasiedlają a nie od warunków atmosferycznych. Jednak badania prowadzone dla izolatów *F. graminearum* wyosobnionych z ziaren kukurydzy, wykazały brak współzależności pomiędzy ich agresywnością a produkcją toksyn (Harris i in., 2005). Dodatkowo, Marin i in. (2008) wykazali różnice pomiędzy izolatami dla ich tempa wzrostu i produkcji toksyn nawet na różnych pożywkach sztucznych, co potwierdzono również w badaniach własnych (Czembor i in., 2011). Hodowla i wykorzystanie w uprawie odmian odpornych są powszechnie uznane za najbardziej opłacalną i przyjazną środowisku metodę ochrony roślin. Zagadnienia te są szeroko opisane w pracach takich jak: Presello i in., 2005, 2010, 2011a, Czembor i in., 2011a, 2011b, 2013, Zijlstra i in., 2011; Vasileiadis i in., 2011. W przypadku kukurydzy i fuzariozy kolb jest to obecnie jedyna możliwa metoda. Stosowanie fungicydów jest trudne i mało efektywne, ponieważ trudno jest ocenić nasilenie choroby a jej rozwój może być zbyt szybki aby fungicyd okazał się skuteczny. Ważną rolę pełni również ograniczenie występowania owadów i szkodników, które w trakcie żerowania uszkadzają kolby kukurydzy, wpływając w ten sposób na szybki rozwój choroby (Munkvold, 2003 a, 2003 b). Interakcja pomiędzy grzybami z rodzaju *Fusarium* spp. a kukurydzą jest bardzo specyficzna. Nie jest to klasyczny układ, w którym nasilenie choroby jest efektem końcowym interakcji pomiędzy gospodarzem, patogenem i środowiskiem. Układ ten należy uzupełnić o wpływ środowiska i samych grzybów z rodzaju *Fusarium* spp. na ilość i rodzaj produkowanych toksyn. Dlatego celem prowadzonych prac była ocena stopnia odporności zróżnicowanych fenologicznie i morfologicznie mieszańców kukurydzy na fuzariozę kolb na podstawie oceny objawów fenotypowych choroby przy infekcji naturalnej oraz po inokulacji *F. graminearum* i *F.*

verticillioides oraz zdolności do akumulacji toksyn. Celem dodatkowym była ocena stopnia odporności badanych mieszańców na zgorzel podstawy łodygi przy infekcji naturalnej oraz określenie współzależności pomiędzy badanymi cechami.

MATERIAŁY I METODY

Doświadczenia prowadzono na polach doświadczalnych Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — PIB w Radzikowie oraz na polach doświadczalnych Hodowli Roślin Smolice Sp. z o.o. w Smolicach oraz na polach doświadczalnych Małopolskiej Hodowli Roślin Sp. z o.o. w Kobierzycach w latach 2008–2009. Odporność badanych mieszańców kukurydzy na fuzariozę kolb oceniano przy infekcji naturalnej oraz po zakażeniu sztucznym kolb grzybami *Fusarium graminearum* i *F. verticillioides*. Odporność na zgorzel podstawy łodygi oceniano przy infekcji naturalnej. Nasiona wysiewano w siewie rzędowym, średnio 20 roślin w rzędzie, w terminie do 20 kwietnia w Smolicach i Kobierzycach oraz w terminie do 1 maja w Radzikowie. Rozstawa pomiędzy roślinami w rzędzie wynosiła średnio 20 cm, a pomiędzy rzędami 75 cm; stosowane nawożenie to: 200 kg/ha N, 80 kg/ha P₂O₅, 120 kg/ha K₂O.

Materiał roślinny

W 2008 roku do badań wytypowano zestaw 14 mieszańców kukurydzy, natomiast w 2009 roku 17 mieszańców. Materiał badawczy wytypowano na podstawie zróżnicowanej podatności na grzyby z rodzaju *Fusarium* spp. w warunkach polowych, z uwzględnieniem wczesności i różnic fenotypowych w budowie ziarniaka (dent i flint) (tab. 1).

Tabela 1

Lista mieszańców scharakteryzowanych dla stopnia odporności na fuzariozę oraz na zgorzel podstawy łodygi w latach 2008–2009

The list of hybrids investigated in the years 2008 and 2009

Forma — Form	Rok — year 2008	Rok — year 2009
Dent/semident	Kosmo, KB 1902, KB 1903, KB 2704, Opoka, Tur, Ronaldino, Smok	Blask, Bosman, Wiarus, Glejt, Opoka, PR 39R86, Kosmo, KB 1902, KB 1903, KB 1904
Flint/semiflint	Gavot, Laurelis, PR 39R86, PR 39H32, PR 39G12, Kozak	Kozak, Reduta, NK Ravello, Amadeo, Es Paroli, Ronaldino, Subito

Patogen

W badaniach wykorzystano izolaty *F. graminearum* i *F. verticillioides* należące do kolekcji Pracowni Traw Pastewnych i Roślin Motylkowatych, IHAR — PIB w Radzikowie. Izolaty tworzące kolekcję zostały wyosobnione z próbek ziarna, które pobrano w roku 2007. Odkażone powierzchniowo ziarniaki wykładano na pożywkę PDA. Szalki inkubowano w ciemności, a następnie pod światłem UV w celu stymulacji zarodnikowania. Kultury o charakterystycznej dla *Fusarium* spp. barwie i kształcie zarodników izolowano na szalkach z pożywką PDA i SNA, tak aby dokonać identyfikacji metodą mikroskopową. Następnie przygotowano kultury jednozarodnikowe na wodnym agarze (18g / l wody). Jednozarodnikowe kultury odczepiano na SNA, przez 4–7 dni

inkubowano w warunkach kontrolowanych (w temp. 22°C i zmiennym fotoperiodzie (12 h UV / 12 h ciemność), a następnie do szafy chłodniczej (4°C).

Do przygotowania inokulum wykorzystano 4 izolaty *F. graminearum* i 4 izolaty *F. verticillioides* najbardziej obficie zarodnikujące na pożywce PDA w warunkach laboratoryjnych. Izolaty, po odszczepieniu na szalki z pożywką PDA inkubowano jak poprzednio przez okres 3–4 tygodni. Następnie grzybnię zmywano i rozcieńczano płynną pożywką SNA (3 g agaru / 1 wody), kontrolując ilość zarodników w powstałym roztworze. Inokulację wykonano stosując inokulum *F. graminearum* lub *F. verticillioides* o stężeniu 5×10^5 zarodników / ml.

Test odpornościowy i ocena fenotypowa stopnia odporności na fuzariozę kolb

W roku 2008 stopień odporności badanych mieszańców oceniano przy infekcji naturalnej w 3 lokalizacjach (Radzików, Smolice i Kobierzyce) oraz po zakażeniu sztucznym mieszaniną zarodników *F. graminearum* i *F. verticillioides* po mechanicznym uszkodzeniu ziarniaków w jednej lokalizacji (Radzików). Kolby nakłuwano bolcem zanurzonym w zawiesinie zarodników 8–9 dni od daty kwitnienia kwiatostanów żeńskich, różnicując wielkość bolca w zależności od wielkości kolby.

W 2009 materiał zróżnicowano przy infekcji naturalnej podobnie jak w roku poprzednim w trzech lokalizacjach (Radzików, Smolice i Kobierzyce) oraz po zakażeniu sztucznym bolcem zanurzonym w zawiesinie zarodników *F. graminearum* i *F. verticillioides* oraz za pomocą strzykawki poprzez iniekcję zawiesiny zarodników do kanału kolby wzdłuż słupków. Iniekcję zarodników za pomocą strzykawki prowadzono 4–5 dni od daty kwitnienia.

W 2008 roku w obrębie każdego mieszańca oceniono stopień porażenia 120 roślin, w tym: 30 roślin rosnących przy infekcji naturalnej w Radzikowie, Smolicach i Kobierzycach oraz 30 roślin po inokulacji w Radzikowie.

W 2009 roku oceniono stopień porażenia 112 roślin w ramach każdego mieszańca. Przy infekcji naturalnej w Radzikowie, Smolicach i Kobierzycach ocenie poddano po 28 roślin oraz po 28 roślin inokulowanych grzybami z rodzaju *Fusarium* spp. w Radzikowie.

Ocenę fenotypową stopnia odporności prowadzono w fazie dojrzałości pełnej wykorzystując skalę 1–7 opartą o procent ziarniaków z objawami porażenia: 1 = brak objawów; 2 = 1–3%; 3 = 4–10%; 4 = 11–25%; 5 = 26–50%; 6 = 51–75% i 7 = 76–100% (Reid i in., 1996). Następnie kolby zbierano ręcznie i młócono przygotowując próbki ziarna do prowadzenia analiz chemicznych zawartości toksyn fuzaryjnych.

Test odpornościowy i ocena fenotypowa stopnia odporności na zgorzel podstawy łodygi

Stopień odporności badanych mieszańców na zgorzel podstawy łodygi prowadzono przy infekcji naturalnej. Doświadczenia prowadzone były na polach doświadczalnych, gdzie kukurydza uprawiana była przez wiele lat w monokulturze dlatego nasilenie choroby było wystarczająco duże aby zróżnicować materiał. Łodygi były krojone na wysokości 3 węzła. Używano skali 1–9 (1 — brak objawów choroby, 3 — zmiany chorobowe na pierwszym lub drugim węźle, 5 — zmiany chorobowe na pierwszym lub drugim węźle oraz pierwsze objawy rozkładu tkanek dwóch dolnych międzywęźli, 7 — silny rozkład trzech międzywęźli, ale widoczna tkanka rdzenia, 9 — całkowity rozkład tkanek).

Test odpornościowy i ocena fenotypowa stopnia odporności na zgorzel podstawy łodygi prowadzona była równolegle z oceną stopnia porażenia kolb przy infekcji naturalnej i po inokulacji. W 2008 roku w obrębie każdego mieszańca oceniono stopień porażenia 120 roślin a w 2009 roku 140 roślin.

Oznaczanie zawartości mikotoksyn

W roku 2008 wykonano oznaczenia zawartości mikotoksyn fuzaryjnych: deoksyniwalenolu — DON i sumy fumonizyn B₁ i B₂ — FBs w próbkach ziarna metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) a w roku 2009 zawartości DON i sumy fumonizyn (FBs) metodą testu immunoenzymatycznego (ELISA). Do wszystkich analiz użyto reprezentatywnych próbek ziarna zmielonych na młynku laboratoryjnym. Analizy wykonywano w dwóch powtórzeniach.

Test ELISA

Do analiz użyto testów ELISA produkcji Romelabs, USA. DON ekstrahowano za pomocą wody, a fumonizyny wodnym roztworem metanolu (MeOH:H₂O 70:30 v:v). Do 5 g próbki dodano 25 ml odpowiedniego rozpuszczalnika i wytrząsano 30 min. Po zakończeniu wytrząsania ekstrakt odwirowano (3000 rpm, 3 min.), i rozcieńczono wodą dejonizowaną odpowiednio 1:4 (DON) lub 1:20 (v:v) (FBs). 100 µl rozcieńczonego ekstraktu zmieszano z 200 µl koniugatu, a następnie 100 µl mieszaniny przeniesiono do dołka testowego pokrytego przeciwciałami. Po 15 minutach inkubacji dołki przemyto 5-krotnie odpowiednio roztworem buforowym (DON) lub wodą dejonizowaną (FUM) i osuszono. Dołki napełniono 100 µl substratu, inkubowano 5 min., a następnie reakcję zatrzymano dodając 100 µl roztworu hamującego (stop solution). Wyniki analiz odczytywano przy długości fali 450 nm., z filtrem 630 nm. za pomocą czytnika Stat Fax 300+. Dla każdej serii odczytów sporządzano 4-punktową krzywą kalibracji na podstawie której odczytywano stężenie mikotoksyn w roztworze. Stopień odzysku określano stosując materiał referencyjny (Biopure, Romerlabs, Tulln, Austria). Pomiaru ilościowego mikotoksyn dokonano w zakresie 250–5000 ppb. Dolna granica pomiaru ilościowego (LOQ) wynosiła 250 ppb, a limit detekcji (LOD) 200 ppb. W przypadku uzyskania wyników wyższych niż górna granica pomiaru ilościowego mikotoksyn ekstrakt rozcieńczano 5-krotnie wodą i ponownie analizowano.

Analiza chromatograficzna DON

Ekstrakcję DON przeprowadzono w próbkach o pojemności 50 ml, do których naważono 5 g zmielonego ziarna i dodano 20 ml roztworu acetonitryl : woda (84:16 v:v). Próbkę wytrząsano 30 min., pozostawiono na noc, i ponownie wytrząsano 30 min. Ekstrakt odwirowano (3000 rpm, 3 min.) i 6 ml przesącza naniesiono na kolumnkę SPE Multisep 227 Trich+ (Romerlabs). 4 ml oczyszczonego ekstraktu przeniesiono do szklanej fiolki i odparowano do sucha w bloku grzejnym w strumieniu azotu. Osad rozpuszczono w 0,5 ml fazy ruchomej (8% acetonitryl w wodzie), wymieszano i oczyszczono na filtrze 0,45 µm.

Analizę chromatograficzną przeprowadzono za pomocą chromatografu HP 1050, wyposażonego w detektor UV-VIS. Związki rozdzielano na kolumnie fazy odwróconej RP C18 Lichrospher 100, 250×4,6 mm, o wielkości ziarna 5 µm. Fazę ruchomą stanowił 8% wodny roztwór acetonitrylu, podawany z prędkością 0,9 ml·min⁻¹. Identyfikacji DON dokonano przy długości fali $\lambda = 236$ nm na podstawie czasu retencji, a analizy ilościowej

metodą wzorca zewnętrznego, na podstawie krzywej kalibracji substancji wzorcowej. Wyniki końcowe analizy uwzględniały korektę stopnia odzysku (82%), określonego za pomocą analizy próbki referencyjnej DON w kukurydzy (BRM, Biopure).

Limit detekcji DON wynosił 30 ppb.

Analiza chromatograficzna fumonizyn (FBs) (AOAC, 2000)

Do 5 g zmielonego ziarna dodano 25 ml wodnego roztworu metanolu (MeOH:H₂O 75:25 v:v) i wytrząsano w czasie 60 min. Po odwirowaniu i doprowadzeniu roztworu do pH = 6,0 ekstrakt oczyszczono na kolumnkach jonowymiennych SAX, odparowano do sucha. Fumonizyny upochodniono za pomocą OPA (Shephard, 1998) i rozdzielano chromatograficznie na kolumnie fazy odwróconej C18, 150×4,6 mm, wielkość ziarna 5 µm. Anality wymywano izokratycznie roztworem metanol: 0,1 M bufor fosforanowy pH 3,35 (77:23 v:v) z prędkością 1 ml·min⁻¹. Detekcję prowadzono za pomocą detektora fluorescencyjnego stosując długość fali wzbudzenia λ = 335 nm i emisji λ = 440 nm. Wyniki końcowe analizy uwzględniały korektę stopnia odzysku (FB₁ — 85%, FB₂ — 83%), określonego za pomocą analizy próbki referencyjnej fumonizyn w kukurydzy (BRM, Biopure). Limit detekcji każdej z toksyn wynosił 50 ppb. Wyniki końcowe podano jako sumę FB₁ i FB₂. Średnio zawartość FB₁ stanowiła 85–80% FBs.

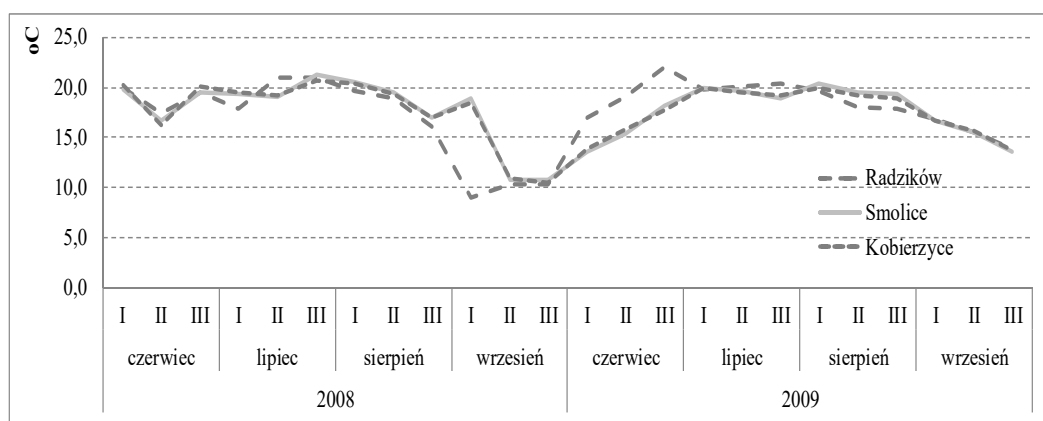
Analizy statystyczne

Doświadczenia zakładano w układzie losowanych bloków. Do oceny istotności różnic dla ocen stopnia odporności na fuzariozę kolb i zgorzel podstawy łodygi oraz zawartości toksyn w próbkach ziarna pobranych z mieszańców rosnących przy infekcji naturalnej oraz po zakażeniu sztucznym. Po odrzuceniu hipotezy, o braku różnic pomiędzy obiektami, dokonano szczegółowego porównania obiektów pod względem odporności na fuzariozę kolb, zgorzel podstawy łodygi oraz zawartości toksyn w próbkach ziarna przy użyciu testu Fishera najmniejszej istotnej różnicy. Wielocechową charakterystykę badanych obiektów wykonano z wykorzystaniem analizy czynnikowej metodą składowych głównych (PCA) oraz analizy skupień. Analizy danych przeprowadzono za pomocą programu InfoStat 1.1.

Warunki meteorologiczne

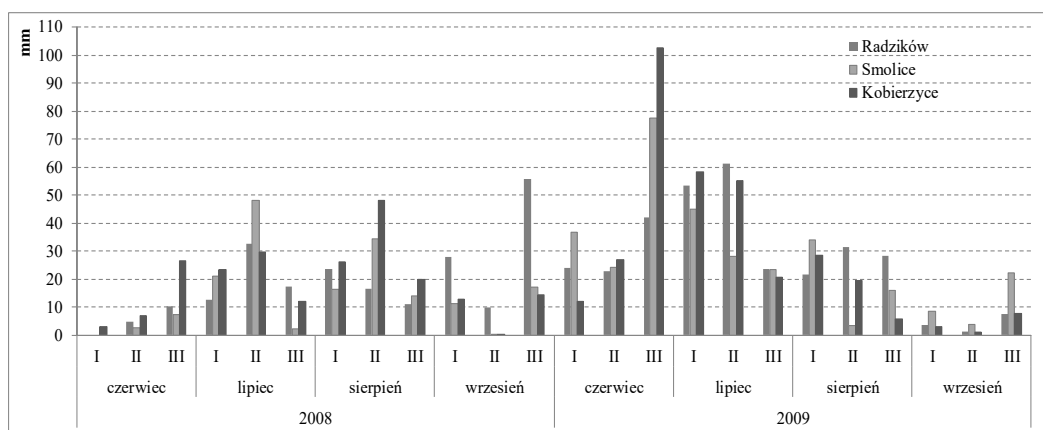
W opracowaniu wykorzystano pomiary temperatury powietrza na wysokości 2 m nad gruntem oraz pomiary opadów, które wykonano w latach 2008–2009 w Stacji Meteorologicznej w Radzikowie, Smolicach i Kobierzycach. Opracowano je jako średnie dekadowe wartości temperatur powietrza oraz dekadowe sumy opadów i przedstawiono w formie wykresów (rys. 1 i 2).

Na przestrzeni lat największe różnice dekadowe dla średnich temperatur powietrza wystąpiły w czerwcu. W 2008 roku wahały się one od 16°C do 20°C a w 2009 roku w pierwszej dekadzie czerwca wynosiła 10°C. Od pierwszej dekady lipca do trzeciej dekady sierpnia średnie temperatury powietrza były zbliżone zarówno pomiędzy lokalizacjami jak i na przestrzeni lat i wynosiły ok. 20°C. We wrześniu 2008 roku temperatury w Radzikowie były niższe niż w Smolicach i Kobierzycach, natomiast w 2009 roku różnice pomiędzy lokalizacjami były niewielkie.



Rys. 1. Średnie dekadowe temperatury powietrza w Radzikowie, Smolicach i Koberzycach w latach 2008–2009

Fig.1. Mean decade temperatures in Radzików, Smolice and Koberzyce in the years 2008 and 2009



Rys. 2. Dekadowe sumy opadów w Radzikowie, Smolicach i Koberzycach w latach 2008-2009

Fig. 2. Decade total precipitation in Radzików, Smolice and Koberzyce in the years 2008 and 2009

Różnice pomiędzy latami w ilości opadów były bardzo duże szczególnie w trzeciej dekadzie czerwca oraz w pierwszej, drugiej i trzeciej dekadzie lipca. Czerwiec 2008 roku był bardzo suchy. W 2009 roku w dwóch pierwszych dekadach czerwca suma opadów wahała się w zakresie 10–35 mm a w trzeciej dekadzie w zakresie 40–100 mm. Również w dwóch pierwszych dekadach lipca 2009 roku opady były intensywne. Wrzesień w obu latach był suchy, poza Radzikowem w 2008 roku, gdy suma opadów w trzeciej dekadzie przekroczyła 50 mm.

WYNIKI

Przy infekcji naturalnej zróżnicowanie dla stopnia odporności na fuzariozę kolb oraz zawartości toksyn w próbkach ziarna było niewielkie i statystycznie nieistotne. Nasilenie choroby po zakażeniach sztucznych było wystarczająco silne aby stwierdzić istotne różnice pomiędzy badanymi obiektami (tab. 2, 3, 4, 5).

Tabela 2

Stopień odporności mieszańców kukurydzy na fuzariozę kolb i zgorzel podstawy łodygi przy infekcji naturalnej w Kobierzycach, Smolicach i Radzikowie oraz poziom skażenia próbek ziarna deoksynivalenolem i fumonizynami w 2008 roku
The levels of maize hybrids resistance to ear rot and stalk rot under natural infection in the Kobierzyce, Smolice and Radzików and the level of deoxynivalenol and fumonisins contamination in the grain samples collected in 2008

Mieszańiec Hybrid	Kobierzyce				Smolice				Radzików			
	fuzarioza kolb ear rot*	zgorzel podstawy łodygi stalk rot**	DON [ppb]	FUM [ppb]	fuzarioza kolb ear rot*	zgorzel podstawy łodygi stalk rot**	DON [ppb]	FUM [ppb]	fuzarioza kolb ear rot*	zgorzel podstawy łodygi stalk rot**	DON [ppb]	FUM [ppb]
Gavot	1,4	3,2	0	655	1,5	3,3	0	231	1,4	3,2	0	0
KB1902	1,0	6,6	0	365	1,2	5,4	0	387	1,3	6,1	0	381
KB1903	1,4	5,2	0	0	1,4	5,6	0	190	1,8	5,8	0	311
KB2704	1,0	5,4	0	0	1,0	5,7	0	0	1,3	5,1	572	126
Kosmo	2,2	5,0	0	7005	1,0	5,0	0	195	1,3	5,3	650	0
Kozak	1,2	5,4	0	1555	1,1	4,1	0	0	1,0	4,4	108	131
Laurelis	1,0	3,8	0	0	1,1	4,6	0	0	1,3	3,8	0	0
Opoka	1,0	3,8	0	0	1,3	4,1	0	111	1,3	4,0	0	550
PR 39G12	1,2	5,0	0	230	1,3	5,6	0	0	1,8	4,4	0	950
PR 39H32	2,0	4,4	0	380	1,1	6,6	0	0	1,0	6,4	0	0
PR 39R86	1,2	4,4	0	725	1,3	5,2	0	0	1,8	4,0	1381	0
Ronaldino	1,0	5,2	0	0	1,2	3,7	0	0	1,2	4,2	150	124
Smok	2,0	4,2	0	410	1,1	3,8	0	231	1,1	4,6	112	0
Tur	2,4	6,2	0	1350	1,1	4,5	0	0	1,1	6,0	489	0
Średnia Mean	1,43	4,84	0	905	1,19	4,80	0	90	1,34	4,81	247	184
CV (%)	11,45	7,3	0	201,6	12,15	6,5	0	139,6	16,04	8,57	162,0	152,6
NIR / LSD***	Ni	0,72	Ni	1326,9	0,309	0,67	Ni	Ni	0,45	0,88	1261,40	Ni

*Skala 1–7 (1 = brak objawów; 7 = 76–100% ziarniaków z objawami porażenia); Scores 1–7 (1 = no symptoms; 7 = 76–100% kernels with the infection symptoms)

**Skala 1–9 (1 = brak objawów choroby, 9 — całkowity rozkład tkanek); Scores 1–9 (no symptoms, (9 — total tissue destruction)

*** Po odrzuceniu hipotezy, o braku różnic pomiędzy obiektami metoda analizy wariancji na poziomie istotności 0,05, dokonano szczegółowego porównania obiektów testem Fischera przy użyciu najmniejszej istotnej różnicy; After differences between objects were detected using analysis of variance at the significance level 0.05, detailed comparisons of objects were performed by the Fischer's test and the least significant difference method

Doświadczenia prowadzono na polach, gdzie kukurydza uprawiana jest w monokulturze na przestrzeni wielu lat, różnice pomiędzy obiektami były istotne już przy infekcji naturalnej. Zarówno w 2008, jak i w 2009 roku najwyższe porażenie kolb odnotowano w Kobierzycach, co miało związek z występowaniem omącznicy prosowianki. W 2008 roku w Radzikowie zakres zmienności dla średnich wartości stopnia odporności badanych

mieszkańców na fuzariozę kolb wahał się w od 1,0 (co oznacza brak porażenia w skali 1–7) do 1,5 w Smolicach, od 1,0 do 1,8 w Radzikowie i od 1,0 do 2,4 w Kobierzycach.

Tabela 3
Stopień odporności mieszańców kukurydzy na fuzariozę kolb po zakażeniu sztucznym kolb mieszaniną izolatów *F. graminearum* i *F. verticillioides* w Radzikowie, stopień odporności na zgorzel podstawy łodygi przy infekcji naturalnej oraz poziom skażenia próbek ziarna deoksyniwalenolem i fumonizynami w 2008 roku

The levels of resistance of maize hybrids after artificial infection with *F. graminearum* and *F. verticillioides* in Radzików to ear rot, the levels of resistance to stalk rot after natural infection and the level of deoxynivalenol and fumonisins contamination in the grain samples collected in 2008

Mieszaniec	Fuzarioza kolb Ear rot [†]	Zgorzel podstawy łodygi Stalk rot ^{**}	DON [ppb]	FUM [ppb]
Gavot	4,5	3,2	11087	18544
KB1902	4,1	6,0	23184	28312
KB1903	3,2	5,5	1669	9924
KB2704	2,4	5,4	6765	10001
Kosmo	2,9	5,1	2825	11055
Kozak	3,3	4,6	1805	30146
Laurelis	4,3	4,1	7688	24558
Opoka	3,6	4,0	7044	24606
PR 39G12	3,4	5,0	675	21477
PR 39H32	3,3	5,8	610	9067
PR 39R86	4,8	4,7	7482	28397
Ronaldino	5,4	4,4	17646	23376
Smok	3,4	4,2	3732	7408
Tur	3,0	5,6	2951	23523
Średnia Mean	3,68	4,83	6798	19314
CV (%)	7,55	4,82	97,7	42,3
NIR / LSD	0,59	0,49	3669,4	8152,19

[†]Skala 1–7 (1 = brak objawów; 7 = 76–100% ziarniaków z objawami porażenia); (1 = no symptoms; 7 = 76–100% kernels with the infection symptoms)

^{**}Skala 1–9 (1 = brak objawów choroby, 9 — całkowity rozkład tkanek); Scores 1–9 (no symptoms, 9 — total tissue destruction)

^{***}Po odrzuceniu hipotezy, o braku różnic pomiędzy obiektami metoda analizy wariancji na poziomie istotności 0,05, dokonano szczegółowego porównania obiektów testem Fischera przy użyciu najmniejszej istotnej różnicy; After differences between objects were detected using analysis of variance at the significance level 0.05, detailed comparisons of objects were performed by the Fischer's test and the least significant difference method

Zawartość DON w próbkach ziarna pobranych z mieszańców w Smolicach i Kobierzycach nie przekraczała progów wykrywalności dla oznaczeń metodą HPLC (30 ppb). Zawartość tej toksyny w 9 próbkach ziarna pobranych w Radzikowie wahała się od 204 ppb do 650 ppb, a w jednej próbce wynosiła 1381 ppb (PR 39R86). We wszystkich lokalizacjach część próbek ziarna była skażona fumonizynami (Radzików — 7 próbek, Smolice — 4 próbki, Kobierzyce — 14 próbek). Statystycznie istotne różnice dla zawartości fumonizyn stwierdzono dla próbek pobranych w Kobierzycach (zawartość fumonizyn powyżej 1000 ppb wykazano w próbkach pobranych z mieszańców Kosmo, Kozak i Tur). W 2009 roku w Kobierzycach nasilenie fuzariozy kolb przy infekcji naturalnej oceniono w zakresie od 1,8 (Ronaldino) do 2,9 (Wiarus). W Smolicach zakres zmienności stopnia porażenia kolb wahał się od 1,2 (Wiarus) do 1,9 (Glejt), a w Radzikowie od 1,1 (Bosman) do 1,8 (KB

1903). Natomiast średnia ocena stopnia porażenia przez przy infekcji naturalnej w Radzikowie wyniosła 1,30 w Smolicach 1,46, a w Kobierzycach 2,25.

Tabela 4

Stopień odporności mieszańców kukurydzy na fuzariozę kolb i zgorzel podstawy łodygi przy infekcji naturalnej w Kobierzycach, Smolicach i Radzikowie oraz poziom skażenia próbek ziarna deoksynivalenolem i fumonizynami w 2009 roku
The levels of maize hybrids resistance to ear rot and stalk rot under natural infection in the Kobierzyce, Smolice and Radzików and the level of deoxynivalenol and fumonisins contamination in the grain samples collected in 2009

Mieszaniec Hybrid	Kobierzyce				Smolice				Radzików			
	fuzarioza kolb ear rot*	zgorzel podstawy łodygi stalk rot**	DON [ppb]	FUM [ppb]	fuzarioza kolb ear rot	zgorzel podstawy łodygi stalk rot	DON [ppb]	FUM [ppb]	fuzarioza kolb ear rot	zgorzel podstawy łodygi stalk rot	DON [ppb]	FUM [ppb]
Amadeo	2,3	2,6	140	0	1,3	3,2	345	0	1,6	2,3	240	0
Blask	2,6	2,1	315	0	1,5	3,8	145	0	1,3	2,0	0	0
Bosman	2,0	2,8	110	0	1,4	3,9	285	0	1,1	2,1	110	0
ES Paroli	2,0	2,7	160	0	1,5	3,6	195	0	1,3	2,2	0	0
Glejt	2,6	2,3	225	0	1,9	3,4	165	0	1,2	2,1	310	0
KB 1902	1,8	3,4	305	0	1,4	3,5	345	0	1,6	3,1	340	0
KB 1903	2,4	3,1	400	0	1,3	3,4	355	0	1,8	4,3	490	0
KB 2704	1,9	2,4	405	0	1,5	4,0	430	0	1,4	2,3	295	0
Kosmo	2,5	3,0	365	0	1,7	3,4	470	0	1,5	2,8	415	0
Kozak	2,5	2,4	280	975	1,5	4,0	485	0	1,6	2,2	525	0
NK Ravello	1,9	2,6	0	0	1,3	3,6	0	0	1,4	2,3	330	0
Opoka	2,5	2,3	450	0	1,4	4,0	260	0	1,4	2,0	480	0
PR 39R86	1,9	3,0	475	0	1,5	3,7	480	5	1,2	2,2	465	0
Reduta	2,4	3,7	445	0	1,5	4,7	275	0	1,2	2,1	190	0
Ronaldino	1,8	2,2	555	1230	1,3	3,1	495	0	1,6	2,2	315	0
Subito	2,1	3,6	600	0	1,6	3,3	580	20	1,3	2,1	130	0
Wiarus	2,9	2,9	400	0	1,2	3,5	445	0	1,6	1,8	635	2000
Średnia Mean	2,25	2,77	331	130	1,46	3,62	339	0	1,30	2,30	310	118
CV (%)	16,96	21,15	49,2	284,4	16,42	10,34	45,4	0	21,43	27,84	58,9	412,3
NIR / LSD	0,8	1,23	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni	Ni

*Skala 1–7 (1 = brak objawów; 7 = 76–100% ziarniaków z objawami porażenia); (1 = no symptoms; 7 = 76–100% kernels with the infection symptoms)

**Skala 1–9 (1 – brak objawów choroby, 9 — całkowity rozkład tkanek); Scores 1–9 (no symptoms, 9 — total tissue destruction)

*** Po odrzuceniu hipotezy, o braku różnic pomiędzy obiektami metoda analizy wariancji na poziomie istotności 0,05, dokonano szczegółowego porównania obiektów testem Fischera przy użyciu najmniejszej istotnej różnicy; After differences between objects were detected using analysis of variance at the significance level 0.05, detailed comparisons of objects were performed by the Fischer's test and the least significant difference method

Duża ilość opadów w 2009 roku sprzyjała rozwojowi *F. graminearum*, co spowodowało, że w przeciwieństwie do roku 2008 większość próbek pobranych z mieszańców rosnących przy infekcji naturalnej nie była skażona fumonizynami powyżej progu wykrywalności, natomiast zawierała DON. W próbkach pobranych w Kobierzycach, tylko dwie z nich zawierały fumonizyny (Kozak i Ronaldino), a w Radzikowie jedna (Wiarus).

Tabela 5

Stopień odporności mieszańców kukurydzy na fuzariozę kolb po zakażeniu sztucznym kolb mieszaniną izolatów *F. graminearum* i *F. verticillioides* w Radzikowie, stopień odporności na zgorzel podstawy łodygi przy infekcji naturalnej oraz poziom skażenia próbek ziarna deoksynivalenolem i fumonizynami w 2009 roku

The levels of resistance of maize hybrids growing after artificial infection with *F. graminearum* and *F. verticillioides* in Radzików, to ear rot and stalk rot and the level of deoxynivalenol and fumonisins contamination in the grain samples collected in 2009

Mieszaniec Hybrid	Iniekcja (za pomocą strzykawki) injection (with a syringe)				Uszkodzenie mechaniczne ziarniaków (bolcem) Mechanical damage of kernes (puncture)			
	fuzarioza kolb ear rot*	zgorzel podstawy łodygi stalk rot**	DON [ppb]	FUM [ppb]	fuzarioza kolb ear rot*	zgorzel podstawy łodygi stalk rot**	DON [ppb]	FUM [ppb]
Amadeo	2,5	2,2	3115	120	3,2	2,7	5535	4680
Blask	2,9	2,1	970	1175	4,2	2,0	12180	13040
Bosman	2,7	2,2	3780	1510	2,5	2,0	2865	5765
ES Paroli	3,5	2,0	1665	3060	2,5	2,0	880	2860
Glejt	3,7	2,4	2070	1135	2,7	2,6	3880	8325
KB 1902	2,6	3,0	1710	2645	3,3	2,5	535	11605
KB 1903	3,6	2,2	4035	9770	3,7	2,3	2775	5795
KB 2704	2,6	2,0	2050	5015	2,2	2,0	3090	1335
Kosmo	2,8	2,2	2455	9630	2,4	2,1	1575	4735
Kozak	2,4	2,3	685	1135	3,6	2,2	4525	15885
NK Ravello	3,7	2,2	7365	6845	3,2	2,2	2220	3840
Opoka	3,2	2,1	3075	1250	2,6	2,2	790	13440
PR 39R86	2,4	2,1	1055	6600	2,8	2,0	685	14315
Reduta	3,7	2,4	4665	1285	2,7	2,0	4090	9685
Ronaldino	4,3	2,2	17500	16115	3,9	2,1	18660	10615
Subito	2,1	2,0	2460	1835	2,2	2,1	550	6565
Wiarus	3,0	3,2	3015	5445	2,0	2,7	600	8690
Srednia / Mean	3,02	2,25	3628	4354	2,91	2,19	3849	8304
CV (%)	15,90	12,04	108,1	99,3	14,31	13,63	123,8	52,2
NIR / LSD	0,97	0,57	2584	2626	0,88	Ni	3657	4366

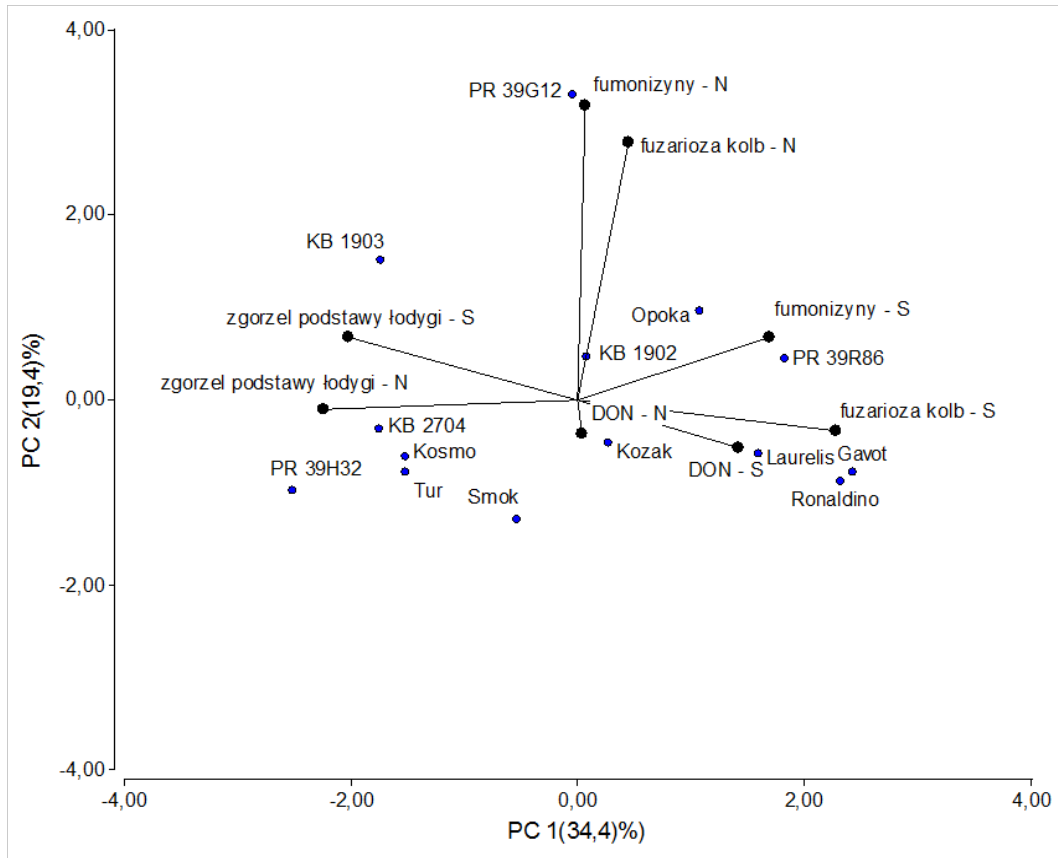
*Skala 1–7 (1 = brak objawów; 7 = 76–100% ziarniaków z objawami porażenia); (1 = no symptoms; 7 = 76–100% kernels with the infection symptoms)

**Skala 1–9 (1 = brak objawów choroby, 9 — całkowity rozkład tkanek); Scores 1–9 (no symptoms, 9 — total tissue destruction)

*** Po odrzuceniu hipotezy, o braku różnic pomiędzy obiektami metoda analizy wariancji na poziomie istotności 0,05, dokonano szczegółowego porównania obiektów testem Fischera przy użyciu najmniejszej istotnej różnicy; After differences between objects were detected using analysis of variance at the significance level 0.05, detailed comparisons of objects were performed by the Fischer's test and the least significant difference method

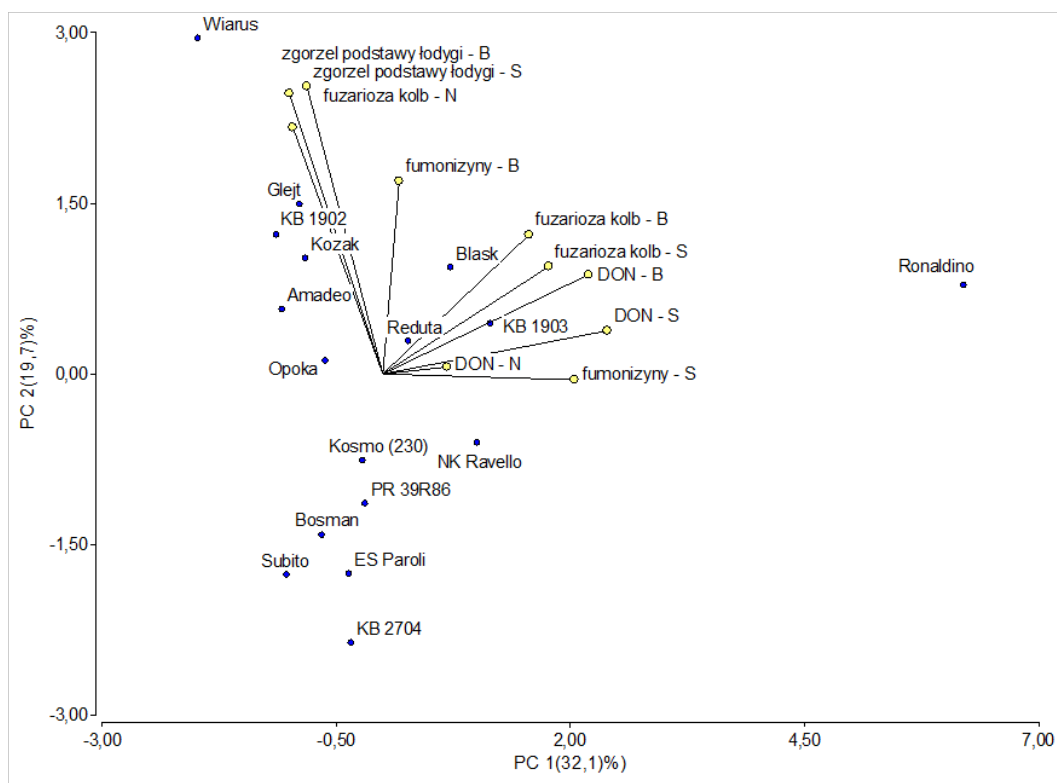
Średnia ocen fenotypowych stopnia odporności badanych mieszańców po zakażeniach sztucznych mieszaniną izolatów *F. graminearum* i *F. verticillioides* po iniekcji zarodników do kanału kolby za pomocą strzykawki (w roku 2009) oraz po mechanicznym uszkodzeniu kolby (w latach 2008–2009) było podobne i zostało ocenione średnio na poziomie 3,70. W 2008 roku zakres zmienności dla ocen stopnia odporności na fuzariozę kolb po zakażeniach sztucznych wahał się od 2,4 (KB 2704) do 5,4 (Ronaldino). Zawartość toksyn w próbkach ziarna pobranych z mieszańców, których kolby były zakażane sztucznie była znacznie wyższa i korespondowała z ocenami fenotypowymi. Poziom skażenia próbek ziarna DON wahał się od 610 ppb (PR 39H32) do 23184 ppb. Podobnie jak przy infekcji naturalnej, poziom skażenia próbek ziarna fumonizynami był znacznie jeszcze wyższy i wahał się

zakresie od 7408 (Smok) do 28312 ppb. W 2009 roku zakres zmienności ocen stopnia odporności mieszańców na fuzariozę kolb po zakażeniu sztucznym poprzez iniekcję zarodników za pomocą strzykawki do kanału kolby wahał się od 2,1 (Subito) do 4,3 (Ronaldino) a po zakażeniu sztucznym po mechanicznym uszkodzeniu ziarniaków od 2,0 do 4,2 (Blask). Zawartość toksyn w próbkach ziarna pobranych z mieszańców po zakażeniu sztucznym po mechanicznym uszkodzeniu ziarniaków była wyższa niż po zakażeniu sztucznym do kanału kolby wzdłuż słupków. Zakresy zmienności dla zawartości toksyn po iniekcji zarodników do kanału kolby: 1140 ppb — 1612 ppb dla DON i 680 ppb — 17500 ppb dla fumonizyn.



Rys. 3. Relacje pomiędzy mieszańcami w układzie dwóch pierwszych składowych głównych wyodrębnionych na bazie wyników ocen odporności na fuzariozę kolb przy infekcji naturalnej (N) i po zakażeniach sztucznych (B — uszkodzenie mechaniczne ziarniaków), zawartości toksyn w próbkach ziarna oraz zgorzeli podstawy łodygi przy infekcji naturalnej w Radzikowie w 2008 roku
Fig. 3. Relation between hybrids in the system of the first two principal components created based on the data of the ear rot under natural infection (N) and after inoculation (B — kernel), and toxins content in kernel samples collected after inoculation and stalk rot resistance scores in Radzików in the year 2008

Po mechanicznym uszkodzeniu ziarniaków zakresy zmienności wahały się od 833 ppb do 15885 ppb dla DON oraz od 530 ppb do 28658 ppb dla fumonizyn. Wyniki uzyskane w 2009 roku wykazały, że zróżnicowanie materiału po zakażeniach sztucznych prowadzonych po uszkodzeniu mechanicznym kolb jest bardziej zbieżne z wynikami przy infekcji naturalnej niż po zakażeniach sztucznych prowadzonych poprzez iniekcję zarodników wzdłuż słupków za pomocą strzykawki.



Rys. 4. Relacje pomiędzy mieszańcami w układzie dwóch pierwszych składowych głównych wyodrębnionych na bazie wyników ocen odporności na fuzariozę kolb przy infekcji naturalnej (N), po zakażeniach sztucznych (S – iniekcja zarodników wzdłuż słupków; B – uszkodzenie mechaniczne ziarniaków), zawartości toksyn w próbkach ziarna oraz zgorzeli podstawy łodygi przy infekcji naturalnej w Radzikowie w 2009 roku

Fig. 4. Relation between hybrids in the system of the first two principal components created based on the data of the ear rot and toxins content in kernel samples collected after inoculation (S – syringe injection of the spores, B – mechanical kernel damage) and stalk rot resistance scores in Radzików in the year 2009

Istotne zróżnicowanie dla stopnia odporności na zgorzel podstawy łodygi przy infekcji naturalnej stwierdzono w trzech lokalizacjach (Radzików, Smolice i Kobierzyce) tylko w 2008 roku. W 2008 roku zakres zmienności dla ocen stopnia odporności na zgorzel podstawy łodygi był podobny we wszystkich lokalizacjach i mieścił się w przedziale od

3,2 (w skali 1–9 w której 1 oznacza brak symptomów choroby) do 6,1 w Radzikowie, od 3,3 do 6,6 w Smolicach oraz od 3,2 do 6,6 w Kobierzycach. W 2009 roku porażenie podstawy łodygi przez grzyby z rodzaju *Fusarium* spp. oceniono odpowiednio w zakresach: od: 1,8–4,3 w Radzikowie, 2,1–3,7 w Kobierzycach i 3,1 do 4,7 w Smolicach.

Rozmieszczenie obiektów w układzie dwóch pierwszych składowych głównych ułatwiło wielocechową analizę stopnia odporności badanych mieszańców na fuzariozę kolb i zgorzel podstawy łodygi oraz zdolności do akumulacji toksyn fuzaryjnych w ziarnie (rys. 3, 4). Zakażenia sztuczne umożliwiły zróżnicowanie materiału roślinnego i wykazanie współzależności pomiędzy badanymi cechami. Zarówno w 2008, jak i w 2009 roku dodatnie współzależności pomiędzy ocenami odporności na fuzariozę kolb a zawartością DON i fumonizyn w badanych próbkach ziarna były statystycznie istotne. Współzależności pomiędzy ocenami stopnia odporności na fuzariozę kolb i zawartością toksyn w próbkach ziarna, a stopniem odporności na zgorzel podstawy łodygi były ujemne. Ronaldino i Kozak należały do grupy mieszańców podatnych i bardzo podatnych na fuzariozę kolb zarówno w 2008 roku jak i w 2009 roku. Kosmo, KB2704 to genotypy, które charakteryzowały się podwyższoną odpornością. Dodatkowo, w 2008 roku genotypami o podwyższonej odporności na fuzariozę kolb ale podatnymi na zgorzel podstawy łodygi były Tur, Smok i PR 39H32.

DYSKUSJA

Intensyfikacja rolnictwa w Polsce spowodowała znaczny wzrost powierzchni uprawy kukurydzy (Adamczyk i in., 2003, 2010). Spowodowało to wzrost znaczenia chorób grzybowych a szczególnie fuzariozy kolb, która oprócz strat ilościowych plonu w sposób istotny obniża jego jakość.

Hodowla odpornościowa jest jedną z najbardziej wskazanych metod ochrony roślin (Zijstra i in., 2011). Dlatego istnieje potrzeba zarówno charakterystyki mieszańców powszechnie uprawianych na terenie Polski pod względem stopnia odporności na fuzariozę kolb jak i poszukiwania nowych źródeł odporności, które będą mogły być wykorzystywane w dalszych pracach hodowlanych. Warunki klimatyczne w Polsce są bardzo zmienne, zarówno na przestrzeni lat jak i w zależności od rejonu kraju, i ma to bardzo duży wpływ na populację grzybów *Fusarium* spp., będących sprawcami fuzariozy kolb (Czembor i in., 2011). Potwierdziły to również bieżące badania. W roku 2008 od czasu kwitnienia, gdy kukurydza jest najbardziej podatna na infekcje do okresu zbioru temperatury były wyższe, a opadów znacznie mniej niż w 2009 roku. Może to uzasadniać fakt, że w 2008 roku przy infekcji naturalnej zawartość metabolitów wtórnych grzyba *F. graminearum* była na granicy wykrywalności z wykorzystaniem metody ELISA. W 2009 roku natomiast, zawartość fumonizyn tylko w niektórych próbkach przekroczyła progi wykrywalności.

Bieżące badania wykazały również zmienność pomiędzy lokalizacjami. Przy infekcji naturalnej jedynie w Kobierzycach nasilenie fuzariozy kolb było wystarczająco duże, aby zróżnicować materiał. W Smolicach i Radzikowie zróżnicowanie dla stopnia odporności na fuzariozę kolb oraz zawartości toksyn w próbkach ziarna było niewielkie. Dlatego badania, których celem jest ocena odporności wybranych genotypów na grzyby z rodzaju

Fusarium spp. powinna być prowadzona po zakażeniach sztucznych. Natomiast nasilenie choroby po zakażeniach sztucznych było wystarczająco silne aby stwierdzić istotne różnice pomiędzy badanymi obiektami. Istnie wiele doniesień literaturowych opisujących wyniki badań efektywności i powtarzalności metod prowadzenia zakażeń sztucznych, które odzwierciedlają infekcje naturalną. Źródłem infekcji pierwotnej są resztki poźniwne, porażone nasiona, chwasty oraz chlamydospory w glebie. Infekcja pierwotna oraz wtórna następuje poprzez liście okrywowe: konidia przenoszone są z kroplą wody na kolbę lub po uszkodzeniu mechanicznym ziarniaków przez ptaki lub szkodniki. Istnieje teoria o systemicznym przemieszczaniu — *F. verticillioides* — korzenie — łodygi — kolby. Morfologia roślin w sposób istotny decyduje o ich odporności na infekcję powodowaną przez grzyby z rodzaju *Fusarium* spp. W doniesieniach literaturowych opisuje się dwa podstawowe typy odporności - infekcja pierwotna oraz wtórna następuje w kropli wody wzdłuż słupków lub gdy infekcja następuje poprzez liście okrywowe po uszkodzeniu mechanicznym ziarniaków przez ptaki lub szkodniki. Opisywane w literaturze metody zakażeń sztucznych to: zakażenie poprzez wstrzyknięcie zawiesiny zarodników grzyba wzdłuż słupków, zakażenie poprzez spryskiwanie słupków zawiesiną zarodników, nakłuwanie patyczkami drewnianymi na których rośnie i zarodkuje grzyb, wstrzykiwanie zawiesiny zarodników grzyba po mechanicznym uszkodzeniu liści okrywowych i ziarniaków. Wyniki badań opisywane w literaturze nie zawsze są zgodne, i dlatego autorzy podkreślają, że metodyka musi być dopracowana przez każdy zespół w zależności od materiału roślinnego jakim dysponuje oraz do warunków środowiska w jakich badania są prowadzone (Mesterhazy i in., 2012, Reid i in., 1993, Reid i in., 2002). W bieżących badaniach wykazano, że oceny stopnia porażenia po zakażeniach sztucznych po mechanicznym uszkodzeniu kolb w sposób bardziej adekwatny odzwierciedlają stopień odporności oceniany przy infekcji naturalnej.

Odporność roślin na porażenie *Fusarium* spp. nie jest równoznaczna z odpornością danego genotypu do akumulacji toksyn produkowanych przez te patogeny. Jednak uważa się, że wyższa ocena fenotypowa stopnia odporności świadczy o mniejszej zawartości toksyn, i może być podstawą w pracach poszukiwania źródeł odporności zarówno na fuzariozę kolb, jak i na niższą zawartość toksyn (Mesterhazy i in., 2012). Potwierdziły to również bieżące badania, ponieważ współzależności pomiędzy ocenami fenotypowymi a zawartością deoksyniwalenolu i fumonizyn w próbkach ziarna były dodatnie i statystycznie istotne.

WNIOSKI

1. W warunkach Polski, zróżnicowanie pomiędzy mieszańcami dla stopnia odporności na fuzariozę kolb oraz do zdolności akumulacji toksyn fuzaryjnych w ziarnie jest istotne.
2. Oceny fenotypowe stopnia porażenia kolb po zakażeniach sztucznych grzybami *F. graminearum* i *F. verticillioides* odzwierciedla zawartość toksyn i może być podstawą w pracach poszukiwania źródeł odporności zarówno na fuzariozę kolb jak i na niższą zawartość toksyn .

3. W warunkach Polski, wyniki ocen fenotypowych uzyskane po zakażeniu sztucznym po mechanicznym uszkodzeniu ziarniaków oraz zawartość toksyn fuzaryjnych w ziarnie bardziej korespondowały do wyników uzyskanych przy infekcji naturalnej niż wyniki uzyskane po zakażeniu sztucznym poprzez iniekcję zarodników grzybów do kanału kolby wzdłuż słupków.
4. Przebieg warunków atmosferycznych w sposób istotny wpływał na stopień porażenia kolb i łodyg grzybami z rodzaju *Fusarium* spp. oraz na zawartość toksyn fuzaryjnych w ziarnie.

LITERATURA

- Adamczyk J., Cygert H., Czajczyński J. 2003. 50 lat hodowli kukurydzy mieszańcowej w Polsce — dorobek i perspektywy. Biul. IHAR 230: 423 — 431.
- Adamczyk J., Rogacki J., Cygert H. 2010. Postęp w hodowli kukurydzy w Polsce. Artykuł przeglądowy. Acta Sci. Pol., Agricultura 9 (4): 85 — 91.
- Ali, M. L., J. H. Taylor, L. Jie, G. Sun, M. William, K. J. Kasha, L. M. Reid, and K. P. Pauls, 2005: Molecular mapping of QTLs for resistance to Gibberella ear rot, in corn, caused by *Fusarium graminearum*. Genome 48, 521 — 533.
- Association of Official Analytical Chemists — AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists. Ed: Cunniff (Gaithersburg: AOAC International), chapter 49: 1 — 51.
- Bartok, T., Szecsi A., Szekeres A., Mesterhazy A., Bartok M. 2006. Detection of new fumonisin mycotoxins and fumonisin-like compounds by reversed phase - high-performance liquid chromatography/electrospray ionization - ion-trap mass spectrometry. Rapid Commun. Mass Spectrom. 20: 1 — 17.
- Bartok, T., Tolgyesi L., Szekeres A., Varga M., Bartha R., Szecsi A., Bartok M., Mesterhazy A. 2010: Detection and characterization of twenty-eight isomers of fumonisin B1 (FB1) mycotoxin in a solid rice culture infected with *Fusarium verticillioides* by reserved phase high-performance liquid chromatography/electrospray ionization time-of-flight and ion trap mass spectrometry. Rapid Commun. Mass Spectrom. 24: 35 — 42.
- Bhat R. V., Shetty P. H., Amruth R. P., Sudershan R. V. 1997. A foodborne disease outbreak due to the consumption of moldy sorghum and maize containing fumonisin mycotoxins. J. Toxicol. Clinical Toxicol. 35: 249 — 255.
- Bolger, M., Coker, R.D., DiNovi, M., Gaylor, D., Gelderblom, W., Olsen, M., Paster, N., Riley, R. T., Shephard, G., Speijers, G. J. A. 2001. Fumonisin. In: Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food. WHO Food Additives Series 47, FAO Food and Nutrition Paper 74, Prepared by the 56th Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). WHO, Geneva, Switzerland: 103 — 279.
- Canady R. A., Coker R. D., Egan S. K., Krska R., Kuiper-Goodman T., Olsen M., Pestka J., Resnik S., Schlatter J. 2001 a. Deoxynivalenol. In: Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food. WHO Food Additives Series 47, FAO Food and Nutrition Paper 74, WHO, Geneva, Switzerland: 419 — 555.
- CAST, Council for Agricultural Science and Technology, 2003. Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, and Human Systems. CAST, Ames, IA, USA.
- Czembor E., Matusiak M. 2013. Ocena zagrożenia skażenia ziarna kukurydzy toksynami fuzaryjnymi w 2012 roku. Wieś Jutra, 2: 51 — 53.
- Czembor, E., Ochodzki, P. 2009. Resistance of flint and dent maize forms for colonization by *Fusarium* spp. and mycotoxin contamination. Maydica 54: 263 — 267
- Czembor E., Adamczyk J., Warzecha R. 2010. Relations between ear and stalk rots of maize in Poland. Book of Abstracts, 11th European *Fusarium* Seminar Radzikow, September 20–23, 2010.
- Czembor E., Ochodzki P., Warzecha R., Adamczyk J., Wójcik K.:2011. Ear rot severity, mycotoxin content and *Fusaria* species in maize hybrids grown in Poland. W: Book of Abstract EUCARPIA Maize and Sorghum Conference — „Resources in Maize and Sorghum Breeding”, 19–22, 06.2011: 97.

- Czembor E., Presello D., Adamczyk J., Wójcik K. 2011 a. Enhancing disease resistance to *Fusarium* by using exotic genotypic variability” Book of Abstracts ISM Conference “Strategies to reduce the impact of mycotoxins in a global context”, 18–18. 2011: 116.
- Czembor E., Presello D., Warzecha R., Adamczyk J., Wójcik K. 2011 b. Responses of pedigree selection for ear and stalk rot resistance in F₂, F₃ and F₄ generations of maize. Book of Abstracts Conference “Sustainable use of pesticides and integrated pest management in East-Central Europe and the Baltics”, Radzikow, Poland, 4–6. 09. 2011: 63.
- Czembor E., Waśkiewicz A., Stępień Ł. 2013. Genetic variation for ear rot resistance and mycotoxin content of Polish maize elite inbred lines after inoculation with *Fusarium graminearum* and *F. verticillioides*. Book of Abstract, European *Fusarium* Seminar, Bordoux, France, 2013.
- Dufresne M., van der Lee T., Berek S. B.M., X. Xu, X. Zhang, T. Liu, Waalwijk C., W. Zhang, Kema G. H. J., Daboussi M. J. 2008. Transpose-tagging identifies novel pathogenicity genes in *Fusarium graminearum*. Fungal Genet. Biol. 45: 1552 — 1561.
- Eller M. S., L. A. Robertson-Hoyt Payne G. A., Holland J. B. 2008 b. Grain yield and *Fusarium* ear rot of maize hybrids developed from lines with varying levels of resistance. Maydica 53: 231 — 237.
- Garcia D., Ramos A. J., Sanchis V., Mari´n S. 2009. Predicting mycotoxins in foods: a review. Food Microbiol. 26: 757 — 769.
- Harris L. J., Saparno A., Johnston A., Pristic S., Xu S., Allard M., Kathiresan A. Ouellet T., Peters R. J. 2005. The maize An2 gene is induced by *Fusarium* attack and encodes an ent-copalyl diphosphate synthase. Plant Mol. Biol. 59: 881 — 894.
- Harrison L. R., Colvin B. N., Greene J. T., Newman L. E., Cole R. J. 1990. Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B1, a toxic metabolite of *Fusarium moniliforme*. J. Vet. Diagn. Invest. 2: 217 — 221.
- Iglesias J., Presello D. A., Botta G., Lori G. A., Fauguel C. M. 2010. Aggressiveness of *Fusarium* Section *Liseola* isolates causing maize ear rot in Argentina. J. Plant Pathol. 92: 205 — 211.
- Logrieco A., Mule G., Moretti A., Bottalico A. 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with maize ear rot in Europe. Eur. J. Plant Pathol. 108: 597 — 609.
- Marin S., Hodzic I., Ramos A. J., Sanchis V. 2008. Predicting the growth/nogrowth boundary and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* in pistachio nuts. Food Microbiol. 25: 683 — 689.
- Meissler M., Mouron P., Musa T., Bigler F., Pons X., Vasileiadis V. P., Otto S., Antichi D., Kiss J., Pálinkás, Z., Dorner, Z., van der Weide R., Groten J., Czembor E., Adamczyk J., Thibord J.-B., Melander B., Cordsen Nielsen G., Poulsen R. T., Zimmermann O., Verschwele A., Oldenburg E. 2010. Pests, pesticide use and alternative options in European maize production: current status and future prospects, Journal of Applied Entomology 34 (5): 357 — 375.
- Mesterhazy A. 2002. Role of deoxynivalenol in aggressiveness of *Fusarium graminearum* and *F. culmorum* and in resistance to *Fusarium* head blight. Eur. J. Plant Pathol. 108, 675 — 684.
- Mesterhazy A., Bartok T., Mirocha C. M., Komoroczy R. 1999. Nature of resistance of wheat to *Fusarium* head blight and deoxynivalenol contamination and their consequences for breeding. Plant Breed. 118, 97 — 110.
- Mesterhazy A., Lemmens M., Reid. L. M. 2012. Breeding for resistance to ear rot caused by *Fusarium* spp. in maize — a review. Plant Breeding, 131: 1 — 19.
- Munkvold G. P. 2003 a. Epidemiology of *Fusarium* diseases and their mycotoxins in maize ears. Eur. J. Plant Pathol. 109: 705 — 713.
- Munkvold G. P. 2003 b. Cultural and genetic approaches to managing mycotoxins in maize. Annu. Rev. Phytopathol. 41: 99 — 116.
- Pestka J. J., Bondy G. S. 1994. Immunotoxic effects of mycotoxins. In: J. D. Miller, and H. L. Trenholm (eds), Mycotoxins in Grain: Compounds other than Aflatoxin, The American Phytopathological Society, St. Paul, MN.: 339 — 358.
- Presello D. A., Czembor E., Fauguel C. M., Adamczyk J., Iglesias J., Sampietro D. A., Rodríguez M. A., Giomi G., Fernández M. 2010. Approaches to develop broad-based *Fusarium* resistance from intra-specific variability in maize. Book of Abstracts, 11th European *Fusarium* Seminar Radzików, September 20–23, 2010.

- Presello D. A., Reid L. M., Butler G., Mather D. E. 2005. Pedigree selection for Gibberella ear rot resistance in maize populations. *Euphytica* 143: 1 — 8.
- Presello D. A., Pereyra A. O., Iglesias J., Fauguel C. M., Sampietro D. A., Eyherabide G. H. 2011 a. Responses to selection of S5 inbreds for broad-based resistance to ear rots and grain mycotoxin contamination caused by *Fusarium* spp. in maize. *Euphytica* 178: 23 — 29.
- Reid L. M., Spaner D., Mather D. E., Bolton A. T., Hamilton R. I. 1993. Resistance of maize hybrids and inbred lines following silk inoculation with three isolates of *Fusarium graminearum*. *Plant Disease*, 77: 1248 — 1251.
- Reid L. M., Hamilton R. I. 1996 a. Effects of inoculation position, timing, macroconidial concentration, and irrigation on resistance of maize to *Fusarium graminearum* infection through kernels. *Can. J. Plant Pathol.* 18: 279 — 285.
- Reid L. M., McDiarmid G., Parker A. J., Woldemariam T. 2003. CO441 corn inbred line. *Can. J. Plant Sci.* 83: 79 — 80.
- Reid L. M., McDiarmid G., Parker A. J., Woldemariam T., Hamilton R. I. 2001 a. CO388 and CO389 corn inbred lines. *Can. J. Plant Sci.* 81: 457 — 459.
- Reid L. M., McDiarmid G., Parker A. J., Woldemariam T., Hamilton R. I. 2001 b. CO430, CO431 and CO432 corn inbred lines. *Can. J. Plant Sci.* 81: 283 — 284.
- Reid L. M., Woldemariam T., Zhu X., Stewart D. W., Schaafsma A. W. 2002. Effect of inoculation time and point of entry on disease severity in *Fusarium graminearum*, *Fusarium verticillioides* or *Fusarium subglutinans* inoculated maize ears. *Can. J. Plant. Pathol.* 24: 162 — 167.
- Rheeder J. P., Marasas W. F. O., Thiel P. G., Sydenham E.W., Shephard G.S., Van Schalkwyk D.J. 1992. *Fusarium moniliforme* and fumonisins in corn in relation to human esophageal cancer in Transkei. *Phytopathology* 82: 353 — 357.
- Robertson-Hoyt L. A., Jines M. P., Balint-Kurti P. J., Kleinschmidt C. E., White D. G., Payne G. A., Maragos C. M., Molnar T. L., Holland J. B. 2006. QTL mapping for *Fusarium* ear rot and fumonisin contamination resistance in two maize populations. *Crop Sci.* 46: 1734 — 1743.
- Shephard G. S. 1998. Chromatographic determination of fumonisin mycotoxins. *Journal of Chromatography A* 815: 31 — 39.
- Szuets, P., Mesterhazy, A., Falkay, G., Bartok, T., 1997. Early thelarche symptoms in children and their relations to zearalenone contamination in food stuffs. *Cereal Res. Comm.* 25: 429 — 436.
- Vasileiadis V.P., Otto S., Sattin M., Palinkás Z., Veres A., Bán R. Kiss J., Pons X., Kudsk P., Weide R., Czembor E., Moonen C., Kiss J. 2011. Crop protection in European maize-based cropping systems: Current practices and recommendations for innovative Integrated Pest Management. *Agricultural Systems* 104: 533 — 540.
- Voss, K. A., Gelineau-van Waes J. B., Riley R. T. 2006. Fumonisin: current research trends in developmental toxicology. *Mycotoxin Res.* 22: 61 — 69.
- Zijlstra C., Lund, I., Justesen A., Nicolaisen M., Bianciotto V., Posta K., Balestrini R., Przetakiewicz A., Czembor, E., van de Zande J. 2011. Combining novel monitoring tools and precision application technologies for integrated high-tech crop protection in the future (a discussion document). *Pest Manag. Sci.* 67: 616 — 625.