

ELŻBIETA MIELNICZUK¹
IRENA KIECANA¹
MAŁGORZATA CEGIELKO¹
ALINA PASTUCHA¹
JULIUSZ PERKOWSKI²

¹ Katedra Fitopatologii i Mykologii, Uniwersytet Przyrodniczy, Lublin

² Katedra Chemii, Uniwersytet Przyrodniczy, Poznań

Wpływ sztucznego zakażenia owsa przez *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc. na plon oraz zawartość mikotoksyn w ziarnie *

The effect of artificial inoculation of oat with *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc. on the yield and mycotoxin content in the grain

Szkodliwość szczepu *F. equiseti* nr 20 wobec 15 genotypów owsa określono na podstawie ścisłego doświadczenia polowego ze sztucznym zakażeniem wiech. Badania przeprowadzono w 2014 roku, na polu doświadczalnym w południowo-wschodniej Polsce. Materiał infekcyjny stanowiła zawiesina konidiów *F. equiseti*. Średnia obniżka liczby ziarniaków w wieszce, w porównaniu do kontroli wynosiła 45,7% (od 15,8 do 66,7%), natomiast redukcja plonu ziarna wynosiła 47,7% (od 20,3 do 69,3%). Obniżka masy 1000 ziaren u badanych genotypów owsa wahała się od 0,5% do 22,8%, średnio 7,3%. W próbach ziarna wszystkich genotypów owsa stwierdzono obecność związków trichotecenowych z grupy A: T-2 toksyny od 0,001 do 0,044 mg·kg⁻¹, HT- 2 toksyny od 0,001 do 0,081 mg·kg⁻¹, scirpentriolu (STO) od 0,002 do 0,056 mg·kg⁻¹, T-2 tetraolu od 0,001 do 0,152 mg·kg⁻¹. Obecność diacetoksyscirpenolu (DAS) i T-2 triolu, stwierdzono u 14 analizowanych genotypów owsa. Stężenie tych metabolitów wynosiło odpowiednio od 0,001 do 0,005 mg·kg⁻¹ i od 0,001 do 0,008 mg·kg⁻¹. Ponadto w próbach ziarna wszystkich genotypów owsa, pochodzących z wiech inokulowanych *F. equiseti* oznaczono 3-Ac DON (0,023–0,026 mg·kg⁻¹), w przypadku 14 genotypów stwierdzono obecność DON (0,016–0,233 mg·kg⁻¹), zaś NIV był obecny w próbach 13 genotypów owsa, w stężeniu od 0,022 do 0,218 mg·kg⁻¹.

Słowa kluczowe: *Fusarium equiseti*, fuzarioza wiech, mikotoksyny, owies, redukcja plonu

The field experiment with artificial infection of panicles of 15 oat genotypes was performed in 2014, in southeastern Poland. Panicles were inoculated with conidial suspension of *Fusarium equiseti* no. 20. The mean reduction in the number of kernels per panicle was 45.7% (from 15.8 to 66.7%), in

* Praca przedstawiona na konferencji IHAR — PIB, Zakopane, 3 lutego 2015 roku

Redaktor prowadzący: Henryk J. Czembor

kernel yield — 47.7% (from 20.3 to 69.3%), and 1000 kernel weight — 7.3% (from 0.5 to 22.8%). Trichothecenes of group A and B were detected in oat kernels. The concentration of T-2 toxin ranged from 0.001 to 0.044 mg·kg⁻¹, HT-2 toxin from 0.001 to 0.081 mg·kg⁻¹, scirpentriol (STO) from 0.002 to 0.056 mg·kg⁻¹, T-2 tetraol from 0.001 to 0.152 mg·kg⁻¹. In kernels of 14 oat genotypes diacetoxyscirpenol (DAS) and T-2 triol were found and concentration of these metabolites ranged from 0.001 to 0.005 mg·kg⁻¹ and from 0.001 to 0.008 mg·kg⁻¹, respectively. Additionally in the infected kernels the following trichothecenes of group B were detected: DON (0.000-0.233 mg·kg⁻¹), 3-Ac - DON (0.023-0.026 mg·kg⁻¹), and NIV (0.000-0.218 mg·kg⁻¹).

Key words: *Fusarium equiseti*, mycotoxins, oat, scab, yield reduction

WSTĘP

W ostatnich latach fuzarioza kłosów i wiech nabiera coraz większego znaczenia. Występowanie tej choroby na zbożach uprawianych w różnych strefach klimatycznych jest przyczyną znacznych strat w plonie ziarna (Logrieco i in., 2003; Mesterhazy i in., 2003; Madden i Paul, 2009). Grzyby z rodzaju *Fusarium* mogą porażać kłosa zbóż w różnych fazach rozwojowych, przy czym najniebezpieczniejsza jest infekcja w fazie kwitnienia, bowiem prowadzi do zmniejszenia plonu w wyniku redukcji liczby ziarniaków w kłosie lub w wieszce oraz obniżenia masy tysiąca ziaren (Kiecana i in., 2002; 2012; Mielniczuk i in., 2004; Tekauz i in., 2004; Tekle i in., 2012).

Wśród gatunków porażających wiechy owsa, wymieniane są głównie: *F. avenaceum*, *F. poae*, *F. culmorum*, *F. graminearum* i *F. sporotrichioides* (Langseth i in., 1995; Mielniczuk, 2001; Tekauz i in., 2004; Kiecana i in. 2005; 2012, Tekle i in., 2012). Na kłosach zbóż, jako gatunek towarzyszący, notowany jest również *F. equiseti*. Grzyb ten został uznany między innymi za sprawcę fuzariozy kolb kukurydzy i kłosów pszenicy oraz innych zbóż uprawianych w Europie i Ameryce Północnej (Bottalico i Perrone, 2002; Logrieco i in., 2003; Kosiak i in., 2004; Fernandez i Chen, 2005). W Polsce izolowany był z kłosów jęczmienia jarego i wiech owsa oraz z ziarna pszenicy (Kiecana, 1994; Mielniczuk, 2001; Góral i in., 2010), zaś w Norwegii i Danii z ziarna pszenicy, jęczmienia i owsa (Kosiak i in., 2004; 2007; Nielsen i in., 2011).

W obrębie gatunku *F. equiseti* obserwowane jest zróżnicowanie morfologiczne szczepów, które powiązane jest z różnicami w wytwarzaniu metabolitów wtórnych, szczególnie mikotoksyn. Kosiak i współautorzy (2005) opisali dwa typy morfologiczne *F. equiseti* — dominujący typ I charakteryzujący się krótką komórką apikalną konidiów oraz typ II charakteryzujący się długą komórką apikalną konidiów i brakiem polifialid, ponadto w obrębie typu II wyróżniono 4 haplotypy.

Szkodliwość *Fusarium* spp. wynika nie tylko ze zmniejszenia plonu, ale także z ich zdolności do wytwarzania w porażonym ziarnie mikotoksyn szkodliwych dla organizmów stałocieplnych, zwłaszcza związków trichotecenowych z grupy A i B oraz zearalenonu (Logrieco i in., 2003; Goliński i in., 2010; Yli-Mattila, 2010; 2011; Góral i in., 2012). Czynniki wpływającymi na zawartość mikotoksyn w porażonym ziarnie są warunki klimatyczno-glebowe, sposób zbioru i przechowywania ziarna, a także cechy genetyczne gatunków i odmian zbóż oraz toksynotwórcze uzdolnienia poszczególnych szczepów *Fusarium* spp. dokonujących infekcji kłosów (Bottalico i Perrone, 2002; Guatam i Dill-

Macky, 2007; Yli-Mattila, 2010; Góral i in., 2012). *Fusarium equiseti* wytwarza w różnych ilościach: niwalenol, fuzarenon X, deoksyniwalenol i jego acetylowe pochodne oraz diacetoksyscirpenol, monoacetoksyscirpenol, T-2 toksynę, HT-2 toksynę, T-2 triol, T-2 tetraol, scirpentriol, a także fuzarochromanon, zearalenon, butenolid i equisetin (Langseth i in., 1999, Bottalico i Perrone, 2002; Hestbjerg i in., 2002; Morrison i in., 2002; Moss i Thrane, 2004; Kosiak i in., 2005). Według Langseth i współautorów (1999) *F. equiseti* dorównuje cytotoksycznością najbardziej toksycznym izolatom *F. culmorum*.

W związku z występowaniem *F. equiseti* na kłosach różnych gatunków zbóż oraz brakiem informacji na temat szkodliwości tego grzyba dla owsa uprawianego w Polsce, celem pracy było określenie wpływu sztucznego zakażenia wiech 15 genotypów owsa przez *F. equiseti* na plon oraz zawartość miktotoksyn w ziarnie.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono w 2014 roku, na polach doświadczalnych w południowo-wschodniej Polsce (okolice Zamościa). Objęto nimi 15 genotypów owsa: DC 06011-8, DC 06182/4, DC 07116-11/2, DC 14-6, DC 14-8, POB 525/10, POB 961-1344/13, POB 4109/10, POB 5733/10, POB 6020/10, STH 1.201, STH 1.230, STH 2.388, STH 3.695 i Denar. Rośliny badanych genotypów owsa zostały wysiane 1 kwietnia 2014 r. na poletkach doświadczalnych, o powierzchni 10 m² każde, przedplonem dla owsa były rośliny okopowe.

Szkodliwość *F. equiseti* dla owsa określono poprzez sztuczne zakażenie wiech w/w genotypów w fazie kwitnienia. Chorobotwórczość szczepów *F. equiseti* została przeprowadzona metodą Mishry i Behra (1976), na podstawie zdolności kiełkowania ziarniaków owsa odmiany Bingo, do dalszych badań wytypowano szczep nr 20, który obniżył kiełkowanie ziarna owsa do 11%.

Materiał infekcyjny stanowiła zawiesina konidiów *F. equiseti* nr 20, o zagęszczeniu 5×10^5 zarodników $\cdot \text{ml}^{-1}$, którą zakażano po 100 wiech każdego genotypu. Wzorując się na wcześniejszych badaniach owsa (Kiecana i in., 2002; 2012; Mielniczuk i in., 2004), inokulację wiech przeprowadzono w fazie kwitnienia (1. 07. 2014 r.) przy pomocy rozpylacza ogrodniczego, używając 4 ml materiału infekcyjnego na 1 wiechę. Wiechy z kombinacji kontrolnej opryskano tylko wodą destylowaną. Po zakażeniu wiechy okrywano osłonami foliowymi i tym sposobem przez 24 godziny chroniono materiał zakaźny przed prądami powietrza i wysychaniem. W fazie dojrzałości pełnej ziarna, zebrano wiechy zainokulowane i wiechy kontrolne, a następnie wydzielono ziarniaki i określono: liczbę ziarniaków w wieszce (4×10 wiech), plon ziarna z 40 wiech (4×10 wiech) oraz masę 1000 ziaren. Uzyskane wyniki opracowano statystycznie (Żuk, 1989).

Ziarniaki z kombinacji doświadczenia ze sztucznym zakażeniem wiech przez *F. equiseti* oraz z kombinacji kontrolnej poddano analizie mykologicznej, metodą szalkową z wykorzystaniem pożywki mineralnej oraz podłoży standardowych.

Analizę zawartości miktotoksyn w ziarnie pochodzącym z wiech inokulowanych *F. equiseti* przeprowadzono w Katedrze Chemii UP w Poznaniu. Oznaczanie trichotecenów z grupy A i B przeprowadzono po wcześniejszej ekstrakcji analizowanych

związków acetonitryl — woda 82 : 18 (v/v) oraz oczyszczaniu metodą ekstrakcji do fazy stałej. Trichoteceny grupy A analizowano jako pochodne trifluoroacetylowe, natomiast trichoteceny grupy B analizowano jako pochodne trimetylosililowe. Rozdział chromatograficzny oraz analiza prowadzona była oddzielnie za pomocą chromatografu gazowego (Hewlett Packard 6890) na kolumnie kapilarnej (HP-5MS, 0,25 mm × 30 m) sprzężonego z detektorem masowym (Hewlett Packard 5972 A). Analiza wykonywana była w trybie szukania wybranych jonów (SIM). Dla trichotecenów grupy A były to: STO 456 i 555; T-2 tetraol 455 i 568; T-2 triol 455 i 569; DAS 402 i 374; HT-2 toksyna 455 i 327; T-2 toksyna 327 i 401. Natomiast dla trichotecenów grupy B: DON 103 i 512; 3-AcDON 117 i 482; NIV 191 i 600. Szybkość przepływu helu wynosiła 0,7 cm³/min. Celem potwierdzenia obecności w próbie oznaczanych toksyn wykonana została analiza w pełnym zakresie mas (od 100–700 amu). Otrzymane wyniki poddano obróbce w programie Chem Station. Analiza zawartości zearalenonu: próby ziarna po uprzednim zmieleniu, poddano ekstrakcji mykotoksyn i po przesączeniu poddano procesowi oczyszczania na kolumnkach powinowactwa immunochemicznego firmy Vicam®. Odparowana do sucha pozostałość rozpuszczona została w 200 µl mieszaniny acetonitryl : metanol : woda (70:20:10, v/v/v), a następnie była homogenizowana w łaźni ultradźwiękowej i dozowana na kolumnę. Identyfikacja jakościowa i ilościowa zearalenonu została wykonana metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z zastosowaniem aparatu Waters 2695, z zestawem detektorów Multi Fluorescence Detector Waters 2475, Photodiode Array Detector Waters 2996 oraz kolumną C18 Nova Pak 3,9 × 150 mm. Fazę nośną stanowiła mieszanina rozpuszczalników: acetonitryl: woda: metanol (46:46:8, v/v/v), rozdział został dokonany przy przepływie 0,5 ml/min i limicie detekcji 0,3 ng/g.

WYNIKI BADAŃ

Sztuczne zakażenie wiech przez *F. equiseti* przy zastosowaniu opisanej metody okazało się skuteczne. Na wiechach wszystkich badanych genotypów owsa występowały charakterystyczne dla fuzariozy objawy i oznaki etiologiczne. Istotne różnice w liczbie ziarniaków w wiesze oraz w plonie ziarna, w porównaniu do kontroli zanotowano u 14 genotypów owsa, wyjątek stanowił ród hodowlany POB 525/10 (tab. 1). Stwierdzono również, że sztuczne zakażenie wiech przez *F. equiseti* wpłynęło istotnie na obniżkę masy 1000 ziaren w przypadku 5 genotypów owsa (tab. 1).

Ubytek liczby ziarniaków w wiesze, w porównaniu do kontroli wynosił od 15,8% (POB 525/10) do 66,7% (STH 1.201) (rys. 1), natomiast redukcja plonu ziarna wynosiła od 20,3% (POB 525/10) do 69,3% (STH 1.201). Średnia obniżka plonu ziarna w wyniku inokulacji wiech przez *F. equiseti* nr 20 wynosiła 47,7% (rys. 2). Redukcja masy 1000 ziaren u badanych genotypów owsa wahała się od 0,5% (STH 3.695) do 22,8% (DC 06182/4) (rys. 3).

Tabela 1

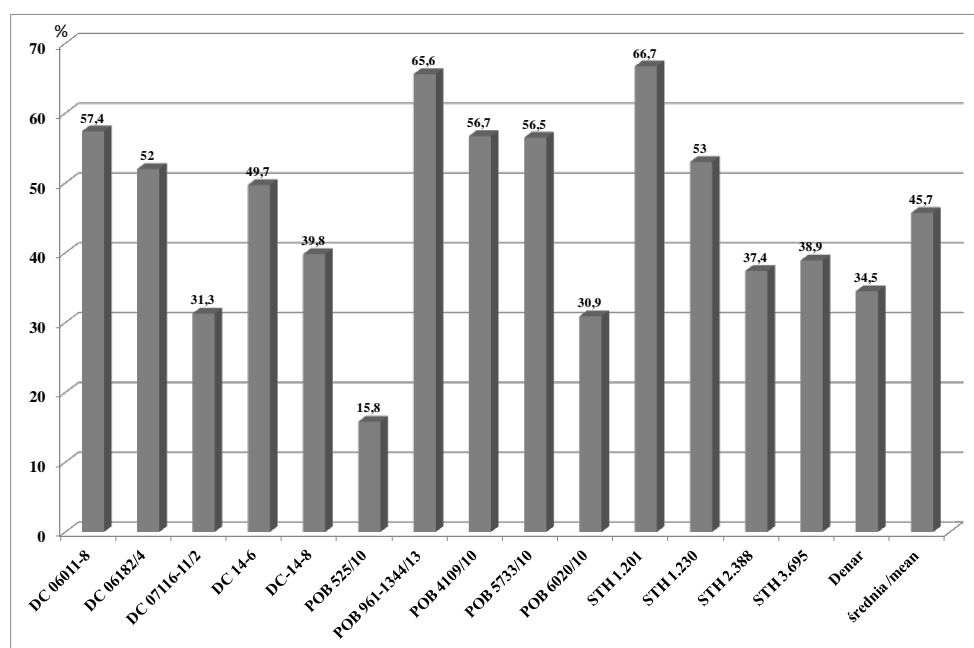
Wpływ sztucznego zakażenia wiech owsa przez *Fusarium equiseti* na liczbę ziarniaków w wieście, plon ziarna z 10 wiech (g), masę 1000 ziaren (MTZ) (g)

Effect of inoculation of oat panicles with *Fusarium equiseti* on the number of kernels per panicle, kernel yield per 10 panicles (g) and 1000 kernel weight (TKW) (g)

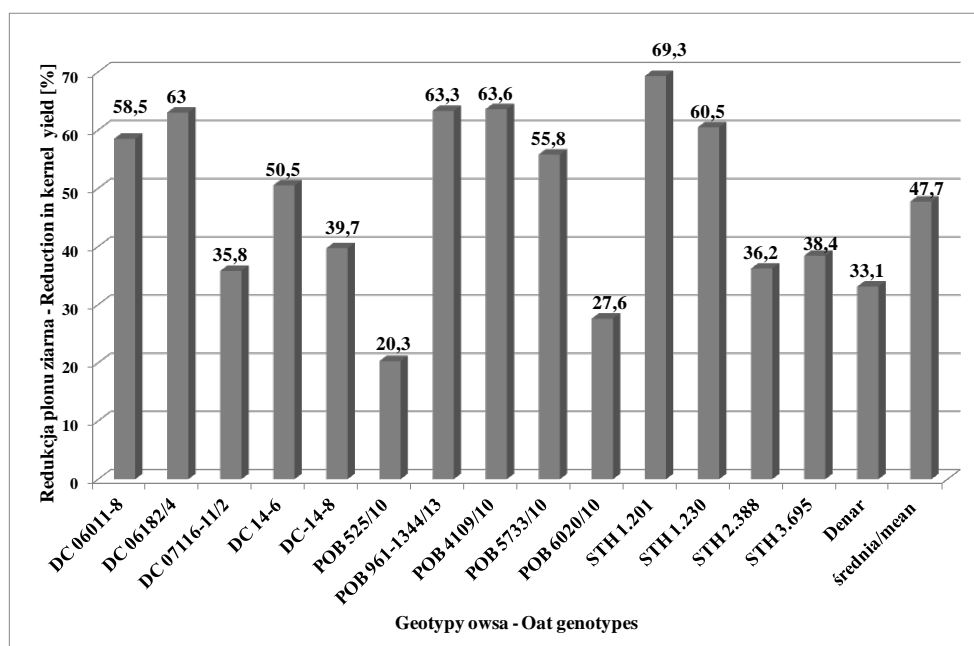
Nr No.	Genotypy owsa Oat genotypes	Średnia liczba ziarniaków w wieście Average number of kernels per panicle		Średni plon ziarna z 10 wiech Average kernel yield per 10 panicles (g)		Średnia masa 1000 ziaren Average 1000 kernel weight (g)	
		<i>F. equiseti</i>	kontrola — control	<i>F. equiseti</i>	kontrola — control	<i>F. equiseti</i>	kontrola — control
1.	DC 06011-8	45,35*	106,57	12,80*	30,83	27,94	29,13
2.	DC 06182/4	43,38*	90,37	9,64*	25,99	22,25*	28,81
3.	DC07116-11/2	46,65*	67,92	14,43*	22,48	30,93	34,00
4.	DC 14-6	39,87*	79,27	13,04*	26,37	32,37	33,38
5.	DC 14-8	47,90*	79,60	15,08*	25,00	29,94	31,81
6.	POB 525/10	51,55	61,20	15,15	19,01	28,31*	31,69
7.	POB 961-1344/13	35,32*	102,62	10,73*	29,25	28,94	29,13
8.	POB 4109/10	28,30*	65,40	8,61*	23,67	30,06*	36,25
9.	POB 5733/10	38,90*	89,50	12,30*	27,84	30,94	31,38
10.	POB 6020/10	50,70*	73,40	15,58*	21,52	30,00	30,38
11.	STH 1.201	30,70*	92,23	9,16*	29,79	29,56*	33,25
12.	STH 1.230	34,90*	74,20	10,00*	25,30	28,88*	33,81
13.	STH 2.388	45,32*	72,45	14,65*	22,98	30,56	32,00
14.	STH 3.695	28,83*	47,15	6,43*	10,44	22,19	22,31
15.	DENAR	46,00*	70,25	14,83*	22,18	30,75	31,69
	Średnia Mean	40,91	78,14	12,13	24,18	28,91	31,27

*Średnie różnią się istotnie w porównaniu do kontroli przy $P \leq 0,05$

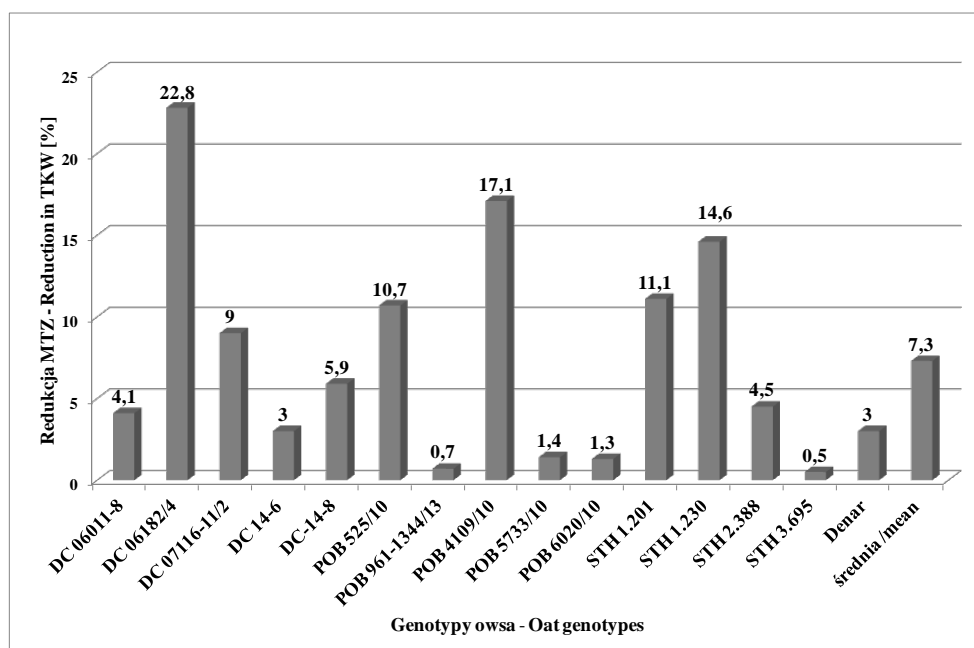
*Compared to the control, the means differ significantly at $P \leq 0.05$



Rys. 1. Redukcja liczby ziarniaków w wieście w wyniku inokulacji przez *F. equiseti*
Fig. 1. Reduction in the number of kernels per panicle after inoculation with *F. equiseti*



Rys. 2. Redukcja plonu ziarna owsa w wyniku inokulacji wiech przez *F. equiseti*
 Fig. 2. Reduction in kernel yield after oat panicles inoculation with *F. equiseti*



Rys. 3. Redukcja masy 1000 ziaren (MTZ) w wyniku inokulacji wiech przez *F. equiseti*
 Fig. 3. Reduction in 1000 kernel weight (TKW) after oat panicles inoculation with *F. equiseti*

Analiza mykologiczna ziarniaków pochodzących z wiech sztucznie zakażanych przez *F. equiseti* dostarczyła licznych izolatów tego gatunku, na ogólną liczbę 759 wyosobnień wszystkich grzybów, 91,7% kolonii należało do *F. equiseti* (tab. 2). W wyniku analizy mykologicznej ziarniaków uzyskanych z wiech kontrolnych owsa najczęściej wyosabniano *Alternaria alternata*, kolonie innych grzybów należały do: *Bipolaris sorokiniana*, *Cladosporium cladosporioides*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium avenaceum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *Mucor hiemalis*, *Penicillium verrucosum* var. *cyclopium* i form niezarodnikujących (tab. 2).

Tabela 2

Grzyby wyosobnione z ziarniaków owsa uzyskanych z wiech sztucznie zakażonych przez *Fusarium equiseti* i wiech kontrolnych
Fungi isolated from oat kernels obtained from panicles inoculated with *F. equiseti* and from control panicles

Gatunki grzybów Fungi species	Liczba izolatów Number of isolates	
	<i>F. equiseti</i>	kontrola — control
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	22	126
<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem	2	0
<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Sacc.) Schoem.	0	2
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fries.) de Vries	0	25
<i>Drechslera avenae</i> (Eidam) Scharif.	2	0
<i>Epicoccum nigrum</i> Link ex Link	7	57
<i>Fusarium avenaceum</i> (Fr.) Sacc.	0	7
<i>Fusarium culmorum</i> (W.G.Sm.) Sacc.	0	8
<i>Fusarium equiseti</i> (Fr.) Sacc.	696	0
<i>Fusarium poae</i> (Peck.) Wr.	0	6
<i>Fusarium sporotrichioides</i> Sherb.	3	0
<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer	0	2
<i>Penicillium verrucosum</i> Dierckx var. <i>cyclopium</i> (West.) Samson et al.	4	2
<i>Trichoderma viride</i> Pers. Ex S. F. Gray	14	0
Formy nie zarodnikujące — Non-sporulating forms	9	10
Razem Total	759	245

Analiza chemiczna ziarniaków pochodzących z wiech inokulowanych *F. equiseti* wykazała obecność związków trichotecenowych z grupy A: T-2 toksyny w ilości od 0,001 (DC 06011-8, DC 06182/4, POB 961-1344/13) do 0,044 (POB 4109/10) mg·kg⁻¹, HT-2 toksyny od 0,001 (DC 06182/4) do 0,081 mg·kg⁻¹ (POB 525/10), scirpentriolu (STO) od 0,002 (DC 06182/4) do 0,056 mg·kg⁻¹ (POB 525/10), T-2 tetraolu od 0,001 (DC 06182/4) do 0,152 mg·kg⁻¹ (POB 525/10). Obecność diacetoksyscirpenolu, stwierdzono w przypadku 14 analizowanych genotypów owsa, wyjątek stanowił ród hodowlany POB 4109/10. Stężenie tego metabolitu w ziarnie pozostałych genotypów owsa wynosiło od 0,001 (DC 06011-8, DC 06182/4, POB 6020/10, STH 1.230, STH 3.695) do 0,005 mg·kg⁻¹ (DC 14-6). T-2 triolu stwierdzono także w próbach ziarna 14 genotypów owsa, toksyny tej nie wykryto w ziarnie rodu hodowlanego DC 06011-8, zawartość T-2 triolu u pozostałych genotypów owsa wynosiła od 0,001 (DC 06182/4, DC 07116-11/2) do 0,008 mg·kg⁻¹ (POB 525/10) (tab. 3).

Tabela 3

Zawartość mikotoksyn ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) w ziarnie uzyskanym z wiech sztucznie zakażanych przez *Fusarium equiseti***Content of mycotoxins ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) in oat kernels after inoculation with *Fusarium equiseti***

Genotypy owsa Oat genotypes	ZEA	T-2 toksyna T-2 toxin	HT-2 toksyna HT-2 toxin	DAS	STO	T-2 triol	T-2 tetraol	DON	3-Ac DON	NIV
DC 06011-8	nd	0,001	0,002	0,001	0,003	nd	0,003	0,184	0,026	0,131
DC 06182/4	nd	0,001	0,001	0,001	0,002	0,001	0,001	0,103	0,025	0,050
DC07116-11/2	nd	0,006	0,016	0,002	0,005	0,001	0,006	0,088	0,025	0,101
DC 14-6	nd	0,003	0,012	0,005	0,023	0,002	0,020	0,074	0,025	0,076
DC 14-8	nd	0,002	0,022	0,003	0,006	0,004	0,023	0,085	0,024	nd
POB 525/10	nd	0,014	0,081	0,002	0,056	0,008	0,152	0,043	0,024	0,218
POB 961-1344/13	nd	0,001	0,014	0,004	0,037	0,003	0,046	0,085	0,024	0,170
POB 4109/10	nd	0,044	0,024	nd	0,035	0,002	0,048	nd	0,024	0,121
POB 5733/10	nd	0,012	0,031	0,003	0,052	0,005	0,066	0,085	0,024	0,121
POB 6020/10	nd	0,006	0,010	0,001	0,010	0,002	0,024	0,135	0,023	nd
STH 1.201	nd	0,005	0,007	0,003	0,014	0,002	0,019	0,233	0,024	0,022
STH 1.230	nd	0,005	0,014	0,001	0,012	0,003	0,062	0,062	0,024	0,044
STH 2.388	nd	0,017	0,004	0,002	0,026	0,003	0,013	0,075	0,023	0,042
STH 3.695	nd	0,012	0,014	0,001	0,018	0,002	0,032	0,016	0,024	0,022
DENAR	nd	0,015	0,017	0,002	0,014	0,003	0,014	0,016	0,024	0,087
Średnia Mean	nd	0,010	0,018	0,002	0,021	0,003	0,035	0,085	0,025	0,080

ZEA — zearalenon — zearalenone; DAS — diacetoksyscirpenol — diacetoxyscirpenol; STO — scirpentriol;
DON — deoksynivalenol — deoxynivalenol; NIV — niwalenol — nivalenol
nd — nie wykryto — non detected

W próbach ziarna pochodzących z wiech inokulowanych *F. equiseti* oznaczono także trichoteceny z grupy B. Stężenie deoksynivalenolu wynosiło od $0,016 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (STH 3.695 i Denar) do $0,233 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (STH 1.201), przy czym w ziarnie rodu hodowlanego POB 4109/10 nie zanotowano obecności tego metabolitu. Zawartość 3-Ac DON wynosiła od $0,023 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (POB 6020/10, STH 2.388) do $0,026 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (DC 06011-8). Niwalenol (NIV) stwierdzono w przypadku ziarna 13 genotypów owsa, w stężeniu od $0,022$ (STH 1.201, STH 3.695) do $0,218 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (POB 525/10) (tab. 3). W próbach ziarna analizowanych genotypów owsa nie wykryto obecności zearalenonu (tab. 3).

Tabela 4

Temperatura powietrza i opady w okresie wegetacji owsa w okolicach Zamościa w 2014 roku
Air temperature and rainfall in the Zamość region in the 2014 growing season of oat

Miesiąc Month	Średnie wieloletnie (1971–2000) Long-term mean (1971–2000)		Odchylenie temp. powietrza w 2014 Air temperatures deviation in 2014 (°C)	Procent normy opadów w 2014 Percentage of long- term mean in 2014 (%)
	temp. powietrza air temperatures (°C)	opady rainfall (mm)		
Kwiecień — April	9	40	+0,4	115
Maj — May	15	75	+1,2	280
Czerwiec — June	17	110	-1,0	77
Lipiec — July	18	90	+2,5	111
Sierpień — August	17	60	+0,3	163

Analizowany sezon wegetacji owsa charakteryzował się wyższą temperaturą powietrza od średnich wieloletnich w miesiącach: kwiecień, maj, lipiec i sierpień odpowiednio o: 0,4; 1,2; 2,5 i 0,3°C, jednocześnie opady w tych miesiącach przewyższały normę od 11 do 180 mm. W czerwcu temperatura była niższa od średniej wieloletniej o 1°C, a opady stanowiły 77% normy (tab. 4).

DYSKUSJA

Do określania podatności kłosów zbóż na porażenie przez grzyby z rodzaju *Fusarium* wykorzystuje się różne metody sztucznego zakażenia (Goswami i Kistler, 2005, Hamzehzarghani i in., 2008). W prezentowanych badaniach, wzorując się na metodach stosowanych przez Kiecanę (1994), Mielniczuk i in. (2004), a także Stein i in. (2009), wiechy opryskiwano zawiesiną konidiów *Fusarium equiseti* szczep nr 20, uznając ten sposób za najbardziej odpowiadający naturalnej infekcji. Biorąc pod uwagę zróżnicowaną chorobotwórczość szczepów w obrębie poszczególnych gatunków z rodzaju *Fusarium* (Kiecana, 1994), zawiesinę infekcyjną przygotowano z zarodnikującego szczepu *F. equiseti*, o chorobotwórczości sprawdzonej według metody stosowanej przez Mishrę i Behra (1976).

Rozwój fuzariozy kłosów w dużej mierze uzależniony jest od warunków pogodowych (Kiecana, 1994; Logrieco i in., 2003; Góral i in., 2012), w analizowanym roku badań wysoka temperatura oraz ilość opadów przewyższająca średnią wieloletnią w miesiącu lipcu, czyli bezpośrednio po inokulacji były sprzyjające dla rozwoju fuzariozy wiech powodowanej przez *F. equiseti*.

Przeprowadzone badania wykazały, że inokulacja wiech przez szczep nr 20 *F. equiseti* w fazie kwitnienia, w dużym stopniu wpływała na obniżenie liczby ziarniaków w wieszce, w mniejszym stopniu zaś hamowała ich rozwój. Od procentowego udziału porażonych wiech w łanie zależy redukcja wielkości plonu z powierzchni uprawy. Plon ziarna z wiech sztucznie zakażanych przez *F. equiseti* obniżył się przeciętnie o 47,7%. Z przeprowadzonych badań wynika, że w warunkach sztucznego zakażenia wiech *F. equiseti* w podobnym stopniu wpływa na redukcję plonu ziarna owsa, jak *F. culmorum* (Mielniczuk, 1999). Mniej szkodliwymi dla wiech owsa okazały się gatunki *F. crookwellense*, *F. sporotrichioides* oraz *F. avenaceum* w latach 1996–1998, a także *F. poae* w latach 2001 i 2008 (Mielniczuk, 1999; Kiecana i in., 2002; 2005; 2012; Mielniczuk i in., 2004). W warunkach kontrolowanych grzyb ten charakteryzował się mniejszą szkodliwością dla kłosów pszenicy jarej, aniżeli *F. avenaceum*, *F. culmorum* i *F. graminearum* (Fernandez i Chen, 2005). W niektórych rejonach Południowej Afryki gatunek ten uznano za ważniejszy w powodowaniu fuzariozy kłosów pszenicy, aniżeli *F. graminearum* uważany za głównego sprawcę choroby w tym kraju (van Coller i in., 2010). *Fusarium equiseti* uznano za jeden z czynników pogarszających jakość ziarna zbóż, w tym owsa uprawianego w Norwegii (Langseth i in., 1999, Kosiak i in., 2004; 2005).

W Polsce *F. equiseti* izolowany był również z korzeni i podstawy źdźbła owsa oraz z korzeni i pochew liściowych żyta (Kiecana i in., 2008; 2009). Ponadto grzyb ten okazał się głównym sprawcą nekrozy korzeni pszenicy oraz miał znaczny udział w uszkodzaniu

podstawy źdźbła tej rośliny uprawianej w warunkach północno-wschodnich rejonów Polski (Majchrzak i in., 2008).

Wyniki badań chemicznych dotyczących profilu i ilości wytwarzanych mikotoksyn potwierdziły dotychczasowe ustalenia, że *F. equiseti* jest zdolny do produkcji związków trichotecenowych z grup A i B (Bottalico i Perrone, 2002; Hestbjerg i in., 2002; Kosiak i in., 2005, Marin i in., 2012). Skład wytwarzanych mikotoksyn w ziarniakach uzyskanych z wiech owsa sztucznie zakażanych przez *F. equiseti* był zbliżony do profilu metabolitów tego grzyba produkowanych w warunkach laboratoryjnych (Langseth i in., 1999; Morrison i in., 2002; Kosiak i in., 2005). W próbach ziarna badanych genotypów stwierdzono obecność T-2 i HT-2 toksyny, diacetoksyscirpenolu, T-2 triolu, T-tetraolu, scirpentriolu, a także deoksyniwalenolu, 3Ac-DON i niwalenolu. W ziarniakach owsa porażonych przez analizowany szczep *F. equiseti* nie stwierdzono natomiast obecności neosolaniolu, monoacetoksyscirpenolu oraz fuzarenonu X i zearalenonu — metabolitów uznanych za charakterystyczne dla profilu mikotoksyn wytwarzanych przez różne izolaty *F. equiseti* (Hestbjerg i in., 2002; Kosiak i in., 2005; Desjardins, 2006). Stężenie mikotoksyn wytwarzanych w ziarnie analizowanych genotypów owsa było niższe, aniżeli w przypadku tych samych metabolitów produkowanych przez różne izolaty *F. equiseti* w warunkach laboratoryjnych (Kosiak i in., 2005). W prezentowanych badaniach szczep *F. equiseti* nr 20 w największych ilościach produkował deoksyniwalenol i niwalenol, średnie stężenie tych metabolitów wynosiło odpowiednio 0,085 i 0,080 mg·kg⁻¹ i było niższe, aniżeli w ziarnie owsa pochodzącym z wiech sztucznie zakażanych przez *F. culmorum* i *F. crookwellense* (Mielniczuk i in., 2004; Kiecana i in., 2010).

Poziom zanieczyszczenia ziarna owsa przez związki trichotecenowe z gr A: T-2 toksynę, DAS i T-2 — tetraol, w wyniku sztucznego zakażenia wiech przez *F. equiseti* był także wyższy, aniżeli w przypadku inokulacji wiech przez *F. poae* nr 35 w 2008 roku, jednak niższy w porównaniu do *F. poae* nr 37. Szczepy *F. poae* nr 35 i 37 w ziarnie owsa produkowały natomiast większe ilości scirpentriolu w porównaniu do analizowanego szczepu *F. equiseti* (Kiecana i in., 2005; 2012).

WNIOSKI

1. Wyniki badań wskazują na dużą patogeniczność *F. equiseti* dla wiech owsa.
2. Występowanie *F. equiseti* na wiechach owsa stwarza niebezpieczeństwo zanieczyszczenia ziarna toksycznymi metabolitami.

LITERATURA

- Bottalico A., Perrone G. 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. J. Plant Pathol. 108: 611 — 624.
- van Coller G. J., Sedeman Z., A., R., Boutigny A. L., Rose L., Lamprecht S. C., Viljoen A. 2010. *Fusarium* species associated with head blight of wheat in South Africa. Book of abstracts 11th European *Fusarium* Seminar, 20-23.09.2010, Radzików, Poland: 217.
- Desjardins A. E. 2006. *Fusarium*- mycotoxins chemistry genetics and biology. APS. PRESS. The American Phytopathological Society St. Paul. Minnesota USA.

- Fernandez M. R., Chen Y. 2005. Pathogenicity of *Fusarium* species on Different Plant Parts of Spring Wheat Under Controlled Conditions. *Plant Dis.* 89, 2: 164 — 169.
- Goliński P., Waśkiewicz A., Wiśniewska H., Kiecana I., Mielniczuk E., Gromadzka M., Kostecki M., Bocianowski J., Rymaniak E. 2010. Reaction of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars to infection with *Fusarium* spp. mycotoxins contamination in grain and chaff. *Food Add. Contam. A*, 27, 7: 1015 — 1024.
- Goswami R. S., Kistler H.C. 2005. Pathogenicity and in plants mycotoxin accumulation among members of the *Fusarium graminearum* species complex on wheat and rice. *Phytopathology* 95: 1397 — 1404.
- Góral T., Ochodzki P., Nielsen L. K., Spliid N., H., Justesen A. F., Walentyn-Góral D., Jørgensen L. N. 2010. *Fusarium* species and mycotoxin content in wheat samples collected in Poland in 2009. Book of abstracts 11th European *Fusarium* Seminar, 20-23.09.2010, Radzików, Poland: 167 — 168.
- Góral T., Ochodzki P., Walentyn-Góral D., Nielsen L. K., Justesen A. F., Jørgensen L. N. 2012. Wpływ przedplonu oraz warunków pogodowych na porażenie kłosów przez grzyby z rodzaju *Fusarium* oraz zawartość mikotoksyn w ziarnie. *Biul. IHAR* 265: 11 — 21.
- Guatam P., Dill-Macky R. 2007. *Fusarium* head blight infection and deoxynivalenol production by *Fusarium graminearum* in wheat. *Phytopathology* 97: 39.
- Hamzehzarghani H., Paranidharan V., Abu – Nada Y., Kushalappa A. C., Dion Y., Rioux S., Comeau A., Yaylayan V., Marshall W. D. 2008. Metabolite profiling coupled with statistical analyses for potential high-throughput screening of quantitative resistance to *Fusarium* head blight in wheat. *Can. J. Plant Pathol.* 30: 24 – 36.
- Hestbjerg H., Nielsen K. F., Thrane u., Elmoholt S. 2002. Production of trichothecenes and other secondary metabolites by *Fusarium culmorum* and *Fusarium equiseti* on common laboratory media and a soil organic matter agar: an ecological interpretation. *J. Agric. Food Chem.* 50: 7593 — 7599.
- Kiecana I. 1994. Badania nad fuzariozą kłosów jęczmienia jarego (*Hordeum vulgare* L.) z uwzględnieniem podatności odmian i zawartości mikotoksyn w ziarnie. *Seria Wydaw. – Rozpr. Nauk. AR, Lublin*, 161: 1 – 49.
- Kiecana I., Mielniczuk E., Kaczmarek Z., Kostecki M., Goliński P. 2002. Scab response and moniliformin accumulation in kernels of oat genotypes inoculated with *Fusarium avenaceum* in Poland. *Europ. J. Plant Pathol.* 108: 245 – 251.
- Kiecana I., Mielniczuk E., Perkowski J., Goliński P. 2005. Porażenie wiech przez *Fusarium poae* (Peck) Wollenw. oraz zawartość mikotoksyn w ziarnie owsa. *Acta Agrob.* 58 (2): 91 — 102.
- Kiecana I., Mielniczuk E., Cegiełko M., Szolkowska A. 2008. Grzyby porażające korzenie i podstawę źdźbła owsa (*Avena sativa* L.). *Biul. IHAR* 247: 73 — 79.
- Kiecana I., Cegiełko M., Mielniczuk E. 2009. Występowanie *Fusarium* spp. na życie ozimym (*Secale cereale* L.) i podatność różnych genotypów na porażenie przez *F. avenaceum* (Fr.) Sacc. i *F. culmorum* (W. G. Sm.) Sacc. *Biul. IHAR* 252: 151 — 161.
- Kiecana I., Mielniczuk E., Cegiełko M., Perkowski J. 2010. Panicles blight and biosynthesis of *Fusarium* toxins in oats kernels field inoculated with *Fusarium culmorum* (W.G.Sm.) Sacc. 11th European *Fusarium* Seminar, 20–23 September 2010, Book of Abstracts: 281.
- Kiecana I., Cegiełko M., Mielniczuk E., Perkowski J. 2012. The occurrence of *Fusarium poae* (Peck) Wollenw. on oat (*Avena sativa* L.) panicles and its harmfulness. *Acta Agrobot.* 65: 169 — 178.
- Kosiak B., Trop M., Skjerve E., Andersen B. 2004. *Alternaria* and *Fusarium* in Norwegian grains of reduced quality—a matched pair sample study. *Int. J. Food Microbiol.*, 93/1: 51 — 62.
- Kosiak E. B., Holst-Jensen A., Runtberget T., Gonzales Jaen M. T., Torp M. 2005. Morphological, chemical and molecular differentiation of *Fusarium equiseti* isolated from Norwegian cereals. *Int. J. Food Microbiol.*, 99: 195 — 206.
- Kosiak B., Trop M., Skjerve E., Thrane U. 2007. The prevalence and distribution of *Fusarium* species in Norwegian cereals: a survey. *Acta Agric. Scand. Sect. B Soil Plant Sci.* 53: 168 — 176.
- Langseth E., Hoie R., Gullord M., 1995. The influence of cultivars, location and climate on deoxynivalenol contamination in Norwegian oats 1985–1999. *Acta Agric. Scand., sect. B, Soil and Plant Sci.* 45: 63 — 67.

- Langseth W., Bernhoft A., Rundenberg T., Kosiak B., Gareis M. 1999. Mycotoxin production and cytotoxicity of *Fusarium* strains isolated from Norwegian cereals. *Mycopathologia* 144: 103 — 113.
- Logrieco A., Bottalico A., Mulé G., Moretti A., Perrone G., 2003. Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean crops. *Europ. J. Plant Pathol.*, 109: 645 — 667.
- Madden L.V., Paul P.A. 2009. Assessing heterogeneity in the relationship between wheat yield and Fusarium head blight intensity using random-coefficient mixed models. *Phytopathology* 99, 7: 850 — 860.
- Majchrzak B., Kurowski T.P., Okorski A., 2008. Fungi isolated from the roots and stem bases of spring wheat grown after different cruciferous plants as forecrops. *Pol. J. Natur. Sci.* 23, 2: 299 — 309.
- Marin P., Moretti A., Ritieni A., Jurado M., Vazquez C., González-Jaén M.T. 2012. Phylogenetic analyses and toxigenic profiles of *Fusarium equiseti* and *Fusarium acuminatum* isolated from cereals from Southern Europe. *Food Microbiol.* 31: 229 — 237.
- Mesterházy A., Bartók T., Lamper C. 2003. Influence of Wheat Cultivar, Species of *Fusarium*, and Isolate Aggressiveness on the Efficacy of Fungicides for Control of Fusarium Head Blight. *Plant Dis.* 87, 9: 1107 — 1115.
- Mielniczuk E. 1999. Badania nad fuzariozą wiech owsa (*Avena sativa* L.) z uwzględnieniem podatności odmian i zawartości mikotoksyn w ziarnie. AR Lublin (rozprawa doktorska).
- Mielniczuk E. 2001. The occurrence of *Fusarium* spp. on panicles of oat (*Avena sativa* L.). *J. Plant Prot. Res.* 41, 2: 173 — 180.
- Mielniczuk E., Kiecana I., Perkowski J. 2004. Susceptibility of oat genotypes to *Fusarium crookwellense* Burgess, Nelson and Toussoun infection and mycotoxin accumulation in kernels. *Biologia, Bratislava* 59, 6: 809 — 816.
- Mishra C.B.P., Behr L. 1976. Der Einfluss von *Fusarium culmorum* (W.G.Sm.) Sacc., *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc. und *Fusarium nivale* (Fr.) Ces., *Griphosphaeria nivalis* Müller et Arx auf die Keimung des Weixen. *Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz* 12, 6: 373 — 377.
- Morrison E., Rundberget T., Kosiak B., Aastveit A. H., Bernhoft A. 2002. Cytotoxicity of trichothecenes and fusarochromanone produced by *Fusarium equiseti* strains isolated from Norwegian cereals. *Mycopathologia* 153: 49 — 56.
- Moss M., Thrane H. 2004. *Fusarium* taxonomy with relations to trichothecene formation. *Toxicol. Lett.* 153: 23 — 28.
- Nielsen L. K., Jensen J. D., Nielsen G. C., Jensen J. E., Spliid N. H., Thomsen I.K., Justesen A. F., Collinge D. B., Jørgensen L. N. 2011. Fusarium Head Blight of Cereals in Denmark: Species Complex and Related Mycotoxins. *Phytopathology* 101, 8: 960 — 969.
- Stein J. M., Osborne L. E., Bondalapati K. D., Glover K. D., Nelson C. A. 2009. *Fusarium* head blight severity and deoxynivalenol concentration in wheat in response to *Gibberella zeae* inoculum concentration. *Phytopathology* 99, 6: 759 — 764.
- Tekauz A., McCallum B., Ames N., Mitchell Fetch J. 2004. Fusarium head blight of oat – current status in western Canada. *Can. J. Plant Pathol.* 26, 4: 473 — 479.
- Tekle S., Dill-Macky R., Skinnes H., Tronsmo A. M., Bjornstad A. 2012. Infection process of *Fusarium graminearum* in oats (*Avena sativa* L.). *Eur. J. Plant Pathol.* 132: 431 — 432.
- Yli-Mattila T. 2010. Ecology and evolution of toxigenic *Fusarium* species in cereals in Northern Europe and Asia. *J. Plant Pathol.*, 92, 1: 7 — 18.
- Yli-Mattila T. 2011. Detection of Trichothecene-producing *Fusarium* Species in Cereals in Northern Europe and Asia. *Agronomy Res.* 9, II: 521 — 526.
- Żuk B., 1989. *Biometria stosowana*, PWN, Warszawa.