

HALINA WIŚNIEWSKA ¹
TOMASZ GÓRAL ²
PIOTR OCHODZKI ²
DOROTA WALENTYN-GÓRAL ²
MICHAŁ KWIATEK ¹
MACIEJ MAJKA ¹
IGA GRZESZCZAK ²
JOLANTA BELTER ¹
ZOFIA BANASZAK ³
MIROSLAW POJMAJ ³
DANUTA KURLETO ³
MARCIN KONIECZNY ³
GRZEGORZ BUDZIANOWSKI ⁴
ALICJA CICHA ⁴
KAZIMIER PAIZERT ⁴
HENRYK WOŚ ⁴

¹ Instytut Genetyki Roślin PAN, Poznań

² Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin PIB, Radzików

³ Danko Hodowla Roślin Sp. z o.o., Choryń

⁴ Hodowla Roślin Strzelce Sp. z o.o. Grupa IHAR, Strzelce

Odporność rodów hodowlanych pszenżyta ozimego na fuzariozę kłosów*

Resistance of winter triticale breeding lines to *Fusarium* head blight

Przedmiotem badań było 35 genotypów pszenżyta ozimego o zróżnicowanym podłożu genetycznym oraz dwie odmiany, które analizowano pod względem odporności na fuzariozę kłosów powodowaną przez *Fusarium culmorum* oraz akumulacji toksyn fuzaryjnych w ziarnie. Genotypy pszenżyta zostały wysiane na poletkach doświadczalnych w dwóch lokalizacjach: Cerekwica i Radzików. Kłosa poszczególnych genotypów były inokulowane mieszaniną trzech szczepów *Fusarium culmorum*. Określono indeks fuzariozy kłosów (IFK) oraz procent uszkodzonych ziarniaków (FDK). Ziarniaki były analizowane pod względem zawartości trichotecen z grupy B (deoksyniwalenol [DON] i pochodne, niwalenol) oraz zearalenonu. Indeks fuzariozy kłosów w obu lokalizacjach był zbliżony, średnio w Cerekwicy 7,8% a w Radzikowie 10,2%, jednakże średnie IKF różniły się statystycznie

* Praca finansowana w ramach projektu Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi, Decyzja: HOR hn – 801 — 11/13

istotnie. Procent ziarniaków uszkodzonych przez *Fusarium* był wyższy w Cerekwicy niż Radzikowie, odpowiednio średnio 43,0% i 28,7%. Stwierdzono wysokie stężenie toksyn w ziarniakach badanych genotypów pszenżyta. Zawartość DON w dwóch lokalizacjach wahała się od 1,528 do 7,613 mg/kg — średnio 3,994 mg/kg. Stwierdzono również wysokie stężenie niwalenolu od 1,673 do 19,735 mg/kg — średnio 7,213 mg/kg. Wykazano istotną statystycznie korelację pomiędzy sumą trichotecen i FDK ($r = 0,706$) oraz sumą trichotecen a redukcją masy ziarna z kłosa ($r = 0,407$). Zawartość niwalenolu i zearalenonu również istotnie korelowała z FDK ($r = 0,697$ i $r = 0,339$). Analiza k-średnich pozwoliła na wyróżnienie trzech grup genotypów pszenżyta. Grupa pierwsza — obejmująca 15 genotypów charakteryzowała się średnim IFK oraz niskim uszkodzeniem ziarniaków i niską zawartością toksyn fuzaryjnych. Redukcja plonu ziarna oraz MTZ była na średnim poziomie, natomiast najniższa w tej grupie była redukcja liczby ziarniaków w kłosie. Grupa druga zawierająca 11 genotypów, charakteryzowała się najniższym średnim porażeniem kłosa, czemu towarzyszyło wyższe niż w grupie pierwszej uszkodzenie ziarniaków. Wyższa też była w tej grupie zawartość toksyn w ziarnie. Redukcja plonu i liczby ziarniaków nie różniła się wyraźnie od tej dla grupy pierwszej. Niższa była natomiast redukcja MTZ. W grupie trzeciej obejmującej 11 genotypów znalazły się genotypy o najwyższej podatności na porażenie kłosa, uszkodzenie ziarniaków i akumulację toksyn. W grupie tej najwyższe były też redukcje komponentów plonu.

Słowa kluczowe: *Fusarium culmorum*, odporność, plon, pszenżyto, toksyny fuzaryjne

Resistance to *Fusarium* head blight of 35 winter triticale lines and two cultivars was evaluated. Triticale was sown in field experiments in two locations. Triticale heads were inoculated with three *Fusarium culmorum* isolates. FHB index was scored and after the harvest percentage of *Fusarium* damaged kernels (FDK) was assessed. Grain was analysed for a content of trichothecenes B (deoxynivalenol [DON] and derivatives, nivalenol) and zearalenone. The average FHB indexes were similar in both locations and amounted to 7.8 in Radzików, and 10.2% in Cerekwica, however they differed statistically significantly. Percentage of *Fusarium* damaged kernels was higher in Cerekwica (43.0%) than in Radzików (28.7%). An average content of DON in two localizations ranged from 1.528 to 7.613 mg/kg, with mean: 3.994 mg/kg. The content of nivalenol in the grain was also high and amounted from 1.673 to 19.735 mg/kg, with mean: 7.213 mg/kg. A statistically significant correlation between the sum of the trichothecenes and FDK ($r = 0.706$) and the sum trichothecenes and of reduction of grain yield per head ($r = 0.407$) was found. Concentration of toxins nivalenol and zearalenone also correlated with FDK ($r = 0.697$ and $r = 0.339$, respectively). Analysis of k-means created three clusters of triticale genotypes. Cluster one consisting of 15 genotypes had a medium FHB index, low kernel damage and low content of *Fusarium* toxins. Reduction of grain yield and TKW was at an average level, while the reduction of the kernel number per head was the lowest in this group. Second cluster of 11 genotypes, was characterised by the lowest average head infection, and accompanied by higher FDK than in the first cluster. Toxins content in the grain was also higher in this cluster. Reduction of yield and kernel number was not different from that for the first cluster. The reduction of the TKW was lower. In the third cluster there were 11 genotypes of the highest susceptibility to head infection, kernel damage and toxin accumulation. In this group, reductions of yield components were also the highest.

Key words: *Fusarium culmorum*, *Fusarium* toxins, resistance, triticale, yield

WSTĘP

Fuzarioza kłosów jest chorobą powodowaną przez grzyby rodzaju *Fusarium* (głównie *F. culmorum* i *F. graminearum*), która może prowadzić do obniżenia plonu ziarna. Poważniejszym problemem związanym z fuzariozą kłosów jest skażenie ziarna mikotoksynami takimi jak deoksyniwalenol (DON), niwalenol (NIV) i zearalenon (ZEA). Skażenie to może występować nawet wtedy, gdy nie obserwuje się spadków plonu. Toksyny fuzaryjne mogą być silnie lub chronicznie toksyczne, zarówno dla ludzi jak i dla

zwierząt, zależnie od rodzaju toksyn oraz ich zawartości w spożywanej żywności lub paszy. Choroby powodowane przez toksyny fuzaryjne określane są ogólnie, jako mikotoksykozy.

Największe szkody fuzarioza kłosów powoduje w uprawach pszenicy zwyczajnej i pszenicy twardej, która w porównaniu z innymi zbożami jest najbardziej podatna na tę chorobę. Mniejszą podatnością na porażenie kłosa (wiech) charakteryzują się kolejno pszenżyto, żyto, jęczmień i owies (Miedaner i in. 2001, 2004; Langevin i in., 2004; Góral 2007). W związku z tym pszenżyto było uważane za zboże w mniejszym stopniu zagrożone skażeniem mikotoksynami niż pszenica (Góral i in., 2002; Comeau i in., 2008) jednakże liczne nowe odmiany pszenżyta okazują się podatne na fuzariozę kłosów na poziomie zbliżonym do pszenicy (Góral i Ochodzki, 2006). Ostatnio pojawiają się doniesienia, że w ziarnie pszenżyta akumulowana może być ilość mikotoksyn zbliżona lub nawet wyższa od tej notowanej u pszenicy, pomimo mniejszego nasilenia objawów fuzariozy na kłosach i ziarniakach. Informacje takie prezentowane były na konferencji „8th International Triticale Symposium”, która odbyła się w Belgii w dniach 10–14 czerwca 2013 roku (Harpinder Randhawa, informacja ustna). Podobne wyniki dotyczące kanadyjskich genotypów pszenżyta prezentowano wcześniej na konferencji „3rd International Fusarium Head Blight Symposium” w roku 2008 (Comeau i in., 2008). Brak jak dotąd wyjaśnienia tego zjawiska. Badacze kanadyjscy sugerują, że zwiększona akumulacja toksyn fuzaryjnych wynika z większej podatności okrywy owocowo-nasiennej pszenżyta na uszkodzenie przez *Fusarium* (Veitch i in., 2008; Harpinder Randhawa, informacja ustna). Przyczyną podatności części puli genetycznej pszenżyta (głównie jarego) może być to, że formy pierwotne zostały uzyskane z krzyżowań żyta z pszenicą twardą, która wykazuje bardzo dużą podatność na fuzariozę kłosów. W mniejszym stopniu dotyczy to polskiej populacji pszenżyta ozimego, które otrzymywano z krzyżowań żyta z pszenicą zwyczajną.

Dodatkowo pszenżyto, jako całkowicie syntetyczny rodzaj (*X Triticosecale* Wittmack) zagrożone jest zawężeniem bazy genetycznej odmian, jeżeli nie prowadzi się krzyżowań z gatunkami macierzystymi, co może to prowadzić do spadku odporności tego zboża na patogeny, w tym *Fusarium* spp. Najbardziej skutecznym sposobem redukcji strat powodowanych przez fuzariozę kłosów zbóż może być uprawa odmian odpornych, które, charakteryzują się brakiem lub bardzo niską akumulacją DON-u w ziarnie (Mesterhazy i in., 1999; Bai i in., 2001). Uprawa takich odmian w połączeniu z właściwą agrotechniką pozwoli również na ograniczenie stosowania fungicydów (Mesterhazy, 1995, 2002; Willyerd i in., 2012).

Celem badań było wstępne zidentyfikowanie genotypów pszenżyta o zróżnicowanym podłożu genetycznym o zwiększonej odporności na fuzariozę kłosów powodowaną przez grzyby rodzaju *Fusarium* spp. i niskiej akumulacji mikotoksyn fuzaryjnych w ziarnie. Genotypy te mogą stanowić bazę genetycznych źródeł odporności. Baza ta może być wykorzystywana do badań nad genetyką odporności pszenżyta na fuzariozę kłosów lub wprowadzania odporności do nowych odmian pszenżyta.

MATERIAŁ I METODY

Materiał roślinny

Badania obejmowały rody pszenżyta ozimego o zróżnicowanym podłożu genetycznym, pochodzące z różnych kombinacji krzyżowań. Rody te pochodziły z programów hodowlanych pszenżyta ozimego realizowanych w dwóch firmach hodowlanych: Hodowla Roślin Strzelce oraz Danko Hodowla Roślin. Przebadano odporność 58 rodów na fuzariozę kłosów (wyniki nieprzedstawione). Do szczegółowych analiz wybrano 31 rodów pszenżyta wykazujących niskie porażenie kłosa, cztery rody wykazujące najwyższe porażenie kłosa (S) oraz odmiany Borwo i Fredo.

Doświadczenia polowe

Doświadczenia polowe zostały założone w 2012 roku w układzie losowych bloków w dwóch lokalizacjach położonych w różnych rejonach Polski: w Instytucie Genetyki Roślin PAN w Poznaniu (pole w Cerekwicy) oraz w IHAR — PIB w Radzikowie. Dwie lokalizacje pozwoliły na większe zróżnicowanie warunków klimatycznych (rozkład temperatury i opadów) wpływających w istotny sposób na stopień porażenia i wytypowanie form o podwyższonej odporności na fuzariozę kłosów. Rody pszenżyta ozimego wysiano na poletkach o powierzchni 1 m² w 3 powtórzeniach. Gęstość siewu wynosiła około 300 ziarniaków na m². Termin siewu: Cerekwica — 24 września, Radzików — 2 października. Nawożenie mineralne w kg czystego składnika na hektar przedstawiało się następująco: N — 80 kg/ha, P — 70 kg/ha, K — 105 kg/ha.

Przygotowanie inokulum

Do produkcji inokulum wybrano trzy izolaty *Fusarium culmorum* tworzące deoksynivalenol (KF846 — chemotyp DON), niwalenol (KF350 — chemotyp NIV) i zearalenon (ZFR 112 — chemotyp DON). Izolaty należące do chemotypu DON pochodziły z Radzikowa i zostały wyizolowane z kłosów pszenicy (Wiśniewska i Kowalczyk, 2005; Ochodzki i Góral, 2006). Izolat o chemotypie NIV pochodził z Holandii (oznaczony, jako IPO348) i został wyizolowany z kłosa pszenicy (Snijders i Perkowski, 1990).

Szczepy *F. culmorum* inkubowano oddzielnie przez 5 tygodni w kolbach Erlenmayera o pojemności 300 ml na sterylnych ziarniakach pszenicy, przy odpowiedniej wilgotności ziarna. Zastosowano 50 g ziarna, do którego dodawano 15 ml destylowanej wody i następnie autoklawowano dwukrotnie przez 30 minut w odstępach 24 h. Ziarno zostało zaszczipione krążkami pożywki PDA przerośniętej grzybnią *F. culmorum*. Użyto po 3 krążki na kolbę. Kolby wstrząsano codziennie, aby nie dopuścić do zbrylenia ziarna. Po 5–6 tygodniach na ziarniakach inokulowanych szczepami *F. culmorum* powstawały liczne sporodochia wypełnione zarodnikami. Tak wytworzone zarodniki były odpowiednim materiałem do wykorzystania do inokulacji.

Zarodniki wyplukiwano sterylną wodą z kolb zawierających na ziarniakach sporodochia, cedzono przez gazę i określano ich gęstość za pomocą hematokrytu. Następnie zawiesiny uzyskane z poszczególnych izolatów rozcieńczano wodą sterylną do gęstości około 100 000 zarodników w 1 mililitrze. Do inokulacji stosowano mieszaninę zawiesin trzech izolatów w równych proporcjach.

Inokulacja oraz ocena porażenia kłosów i ziarniaków

W obu lokalizacjach inokulację wykonano metodą opryskiwania. Przed inokulacją do zawiesiny zarodników dodawano 5 kropli/litr środka powierzchniowo czynnego Tween 20 (Sigma-Aldrich). Stosowano około 100 ml zawiesiny na 1 m². Każdy genotyp był inokulowany oddzielnie w pełni kwitnienia. Na polu doświadczalnym IGR PAN w Cerekwicy w celu uzyskania wysokiej wilgotności powietrza sprzyjającej infekcji kłosów, zastosowano po inokulacji przez kolejne trzy dni mikrozaszace, utrzymujące wysoką wilgotność powietrza. W drugiej lokalizacji w Radzikowie doświadczenie prowadzono bez mikrozaszacy, jednak pole doświadczalne umiejscowione jest w pobliżu rzeki i obszar ten charakteryzuje się dużą wilgotnością względną powietrza.

Inokulacja metodą opryskiwania wykazuje podobieństwo do naturalnych warunków infekcji kłosa przez *Fusarium* spp. (Buerstmayr i in., 2003). Metoda ta umożliwia określenie łącznie odporności na infekcję (Typ I) i odporności na rozprzestrzenianie się patogena wzdłuż osadki kłosowej (Typ II). Obserwacje porażenia kłosa przeprowadzono 3-krotnie: po 12, 14 i 16 dniach od inokulacji. Z uzyskanych danych obliczono indeks fuzariozy kłosów według wzoru:

$$\text{IFK} = (\% \text{porażenia kłosa} \times \% \text{kłosów porażonych na poletku}) / 100.$$

Przeprowadzono zbiór 30 dojrzałych inokulowanych kłosów z poletek i wymłócono ręcznie. Spowodowane to było faktem, że silnie porażone ziarniaki są bardzo lekkie, często przyklejone do plew i w czasie mechanicznego młócenia mogą zostać usunięte razem z plewami. Wymłócone ziarno z 30 inokulowanych kłosów z każdego genotypu (3 powtórzeń) dzielono na frakcje: FDK (ziarniaki z wyraźnymi objawami fuzariozy) i HLK (ziarniaki wyglądające zdrowo). Określono % liczby ziarniaków z wyraźnymi objawami fuzariozy (% liczby FDK).

Następnie oznaczono parametry struktury plonu (redukcje: masy ziarna z kłosa, liczby ziarniaków w kłosie, masy tysiąca ziarniaków — MTZ).

Analizy toksyn fuzaryjnych

Stężenie toksyn fuzaryjnych (DON, NIV i ZEA) oznaczono dla każdego genotypu w zmieszanych frakcjach ziarna (FDK+HLK).

Zawartość trichotecen z grupy B w ziarnie (DON, pochodne acetylowe DON-3-AcDON, 15-AcDON, NIV) była analizowana przy wykorzystaniu techniki chromatografii gazowej. Mikotoksyny ekstrahowano z 5 g zmielonego ziarna za pomocą 25 ml wodnego roztworu acetonitrylu (acetonitryl:woda 84:16) wytrząsając na wytrząsarce przez 24 h. Próbkę odwirowano (3000 obr. × min⁻¹, 5 min.), a ekstrakt oczyszczono na kolumnie Trich 227+ (RomerLabs). Do 4 ml oczyszczonego ekstraktu dodano 1 µg wzorca wewnętrznego (chlorałozę) i odparowano do sucha w strumieniu powietrza. Mikotoksyny przeprowadzono w pochodne trimetylosilylowe za pomocą mieszaniny silylującej Sylon BTZ (BSA+TMCS+TMSI, 3:2:3, Supelco). Po rozpuszczeniu zderywatywizowanej próby w izooktanie nadmiar odczynnika silylującego rozłożono i usunięto za pomocą wody. Warstwę organiczną przeniesiono do fiołki autosamplera i poddano analizie chromatograficznej przy użyciu chromatografu SRI 8610C, wyposażonego w kolumnę BGB-5MS, o długości 30 m i średnicy wewnętrznej 0,25 mm. Gazem nośnym był wodór. Elucję prowadzono w gradiencie temperatury od 170°C do 310°C, wzrost z prędkością

5°C×min⁻¹. Detekcję mikotoksyn prowadzono za pomocą detektora wychwyty elektronów (ECD). Identyfikacji poszczególnych związków dokonano przez porównanie czasów retencji czystych wzorców mikotoksyn: DON, 3AcDON, 15AcDON, NIV (Sigma-Aldrich). Stężenie mikotoksyn określono na podstawie krzywej kalibracji, z zastosowaniem chloralozy, jako wzorca wewnętrznego.

Zawartość zearalenonu (ZEA) oznaczano za pomocą ilościowego testu immunoenzymatycznego AgraQuant® ZON (Romer Labs) zgodnie z procedurą podaną przez producenta

Obliczenia statystyczne

Analiza statystyczna została wykonana za pomocą pakietu Microsoft® Excel 2010/XLSTAT©-Pro (Version 2013.4.07, Addinsoft, Inc., Brooklyn, NY, USA). Przeprowadzono analizę wariancji IFK oraz FDK oraz porównanie średnich testem Tukeya (XLSTAT: ANOVA). Obliczono współczynniki korelacji IFK, FDK, redukcji komponentów plonu oraz zawartości poszczególnych mikotoksyn (XLSTAT: Correlation tests). W celu zgrupowania rodów na podstawie różnych typów odporności w dwóch lokalizacjach zastosowano metodę k-średnich (XLSTAT: k-means clustering). Wyniki analizy zostały zobrazowane za pomocą analizy dyskryminacyjnej (XLSTAT: Discriminant analysis).

WYNIKI I DYSKUSJA

Warunki pogodowe w obu lokalizacjach były zróżnicowane (tab. 1). W Cerekwicy opady były wyższe o 7,6 mm w czerwcu w okresie kwitnienia pszenżyta i w lipcu (o 21,6 mm), w okresie dojrzewania ziarna. Temperatura powietrza była zbliżona w obu lokalizacjach; w czerwcu stosunkowo niska, około 18°C, a w lipcu około 20°C (tab. 1).

Tabela 1

Warunki meteorologiczne (suma opadów, średnia temperatura, wilgotność względna powietrza) podczas trwania doświadczenia w Cerekwicy i Radzikowie
Weather conditions (precipitation, mean temperature, relative humidity) in experimental sites in Cerekwica and Radzików

Lokalizacja Location	Suma opadów (mm) Precipitation		Średnia temperatura (°C) Average temperature		Wilgotność względna (%) Relative humidity	
	czerwiec June	lipiec July	czerwiec June	lipiec July	czerwiec June	lipiec July
Cerekwica	121,4	45,0	18,1	20,1	b.d.	b.d.
Radzików	113,8	23,4	18,7	20,0	75,4	69,6

W tych warunkach pogodowych porażenie kłosa było na niskim poziomie, jednakże różnica średnich indeksów FK w obu lokalizacjach była istotna statystycznie. W Cerekwicy porażenie kłosa, wyrażone, jako IFK (%) — pierwszy komponent odporności nie było wysokie (średnio 7,8%), lecz zróżnicowane i kształtowało się w granicach od 4,8% (MAH 33113-1) do 24,7% (MAH 34068-5). Porażenie kłosa wynoszące do 10% IFK obserwowano u 31 genotypów. U 4 genotypów odnotowano indeks fuzariozy kłosów (IFK) wynoszący od 10% do 20%. Jedynie u 2 genotypów stwierdzono porażenie

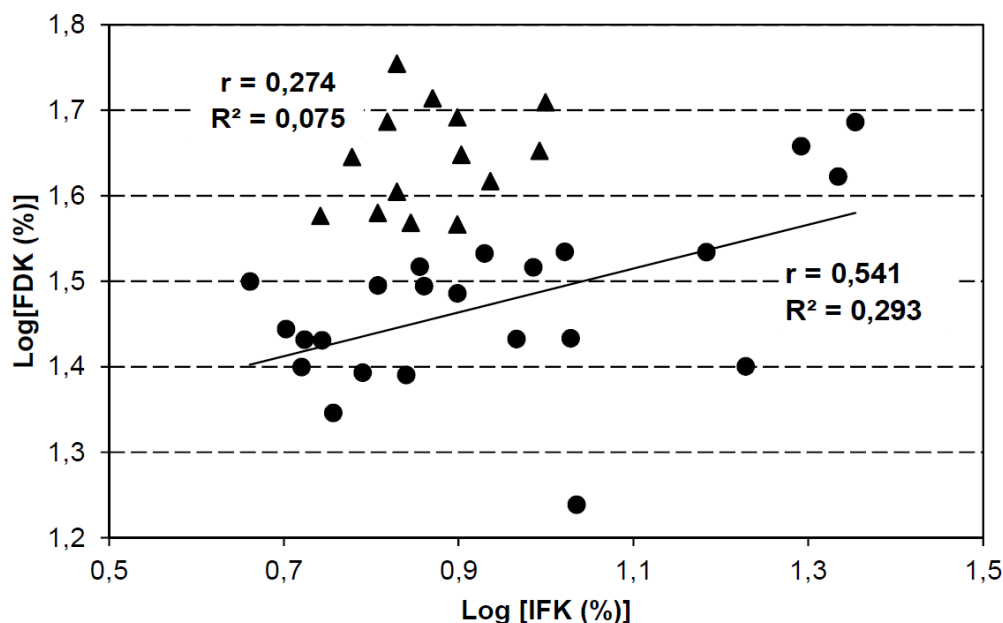
kłosa powyżej 20%. W Radzikowie porażenie kłosa — IFK (%) było podobne (średnio 10,2%) i kształtowało się w granicach od 3,0% (DC 04294/04/1) do 24,5% (DAST 15/11). Porażenie kłosa do 10% IFK obserwowano u 22 genotypów. U 10 genotypów indeks fuzariozy kłosów (IFK) wynosił od 10% do 20%. Natomiast u 5 genotypów stwierdzono porażenie kłosa powyżej 20%. Średnie porażenie kłosa (IFK) genotypów pszenżyta z obu lokalizacji wyniosło 9,0% (tab. 2).

Tabela 2

Indeks fuzariozy kłosów (IFK), uszkodzenie ziarniaków (FDK) oraz redukcje komponentów plonu u genotypów pszenżyta ozimego. Średnie z lokalizacji Cerekwica i Radzików
Fusarium head blight index (FHBI), *Fusarium* damaged kernels (FDK) and reduction of grain yield components in winter triticale genotypes. Means from Cerekwica and Radzików

L.p. No.	Genotyp Line	IFK (%) FHBI	FDK (%)	Redukcja MZK (%) Yield reduction (%)	Redukcja LZK (%) Kernel number reduction	Redukcja MTZ (%) TKW reduction
1	DC 04294/04/1	4,6	31,6	60,0	49,6	16,3
2	DS, 9	5,0	27,8	50,7	39,9	17,1
3	MAH 33113-1	5,3	25,1	55,3	38,4	27,2
4	DS 1238	5,3	27,0	46,6	36,3	12,8
5	MAH 33405-1	5,5	37,7	51,8	41,7	12,4
6	DL 446/08	5,5	27,0	48,5	26,6	25,1
7	BOH 1062-2	5,7	22,2	60,2	41,3	29,3
8	DC 04294/04/2	6,0	44,2	58,8	52,0	18,3
9	LD 121/08	6,2	24,7	49,6	29,8	26,1
10	MAH 34359-1	6,4	31,3	56,3	34,1	29,8
11	BOH534-4	6,4	38,0	61,7	42,7	31,8
12	MAH 33881-1/3	6,6	48,6	58,3	48,4	14,7
13	BOHD 1186-1	6,8	40,3	65,6	47,7	29,7
14	DD 436/07	6,8	56,8	64,2	50,1	26,9
15	MAH 33881-7	6,9	24,6	49,3	28,3	27,5
16	BOH 2472-1	7,0	37,0	65,7	56,6	20,4
17	BOHD 1049-1	7,2	32,9	63,7	44,8	34,2
18	DC 03326/06/2	7,3	31,2	48,2	34,8	14,8
19	BOH835-4	7,4	51,8	63,9	46,7	32,2
20	DANKO 8	7,9	30,6	62,8	45,8	31,8
21	DC 06080-56	7,9	36,9	56,5	43,5	21,5
22	Borwo	7,9	49,2	57,9	35,7	33,9
23	BOH 1351-1	8,0	44,5	61,1	56,4	24,1
24	BOHD 1352-2	8,5	34,1	51,9	31,9	29,9
25	DL 593/07	8,6	41,4	55,0	43,9	17,9
26	MAH 33881-14	9,3	27,1	58,0	39,9	29,2
27	DAST 27/10	9,7	32,8	53,1	34,5	27,4
28	DANKO 7	9,8	44,9	58,2	39,9	24,1
29	MAH 33097-1	10,0	51,2	66,1	41,6	36,9
30	DANKO 4	10,5	34,2	42,1	26,3	24,4
31	MAH 32459-1	10,7	27,1	60,8	44,7	26,9
32	DANKO 2	10,8	17,3	6,1	27,4	21,4
33	LM 21/11 (S)	15,3	34,2	54,5	29,7	31,4
34	Fredro	16,9	25,1	55,7	39,7	23,4
35	DAST 15/11 (S)	19,6	45,5	46,3	18,4	34,2
36	BOH 1273-1 (S)	21,6	41,9	68,3	54,8	28,0
37	MAH 34068-5 (S)	22,6	48,5	61,5	42,5	30,5
Średnia — Mean		9,0	35,8	56,6	40,2	25,5
NIR _{0,05} Tukeya — Tukey's LSD _{0,05}		3,9	18,3	16,5	22,4	-

MZK — masa ziarna z kłosa, LZK — liczba ziarniaków w kłosie, MTZ — masa tysiąca ziarniaków
 Yield — grain yield per head, kernel number — kernel number per head, TKW — 1000 kernel weight



Rys. 1. Zależność pomiędzy porażeniem kłosa przez *F. culmorum* (IFK) a stopniem uszkodzenia ziarniaków (FDK) dla 23 genotypów pszenżyta ozimego (kółka) ($r = 0,541$). Pozostałe 13 genotypów (kwadraty) wykazało silne uszkodzenie ziarniaków pomimo niskiego lub średniego porażenia kłosa (Fig. 1. Relationships between *Fusarium* head blight index (%) and *Fusarium* damaged kernels of 23 winter triticale genotypes (circles) ($r = 0,541$). The other 13 genotypes (squares) demonstrated high kernel damage despite of the low or moderate head infection

Porażenie kłosa poniżej średniej wykazało dwie trzecie genotypów (25). Cztery genotypy oraz odmiana Fredro charakteryzowały się porażeniem kłosów (IFK) powyżej 15%. Mimo niewielkiego porażenia kłosów w obu lokalizacjach drugi komponent związany z odpornością — procent ziarniaków z wyraźnymi objawami fuzariozy (FDK) w badanych lokalizacjach był bardziej zróżnicowany. W Cerekwicy stwierdzono średnio 43,0% ziarniaków posiadających objawy porażenia (FDK), w zakresie od 16,2% u genotypu DANKO 2 do 77,6% u genotypu DD 436/07. U 10 genotypów procent ziarniaków z wyraźnymi objawami uszkodzenia (FDK) określono poniżej 30%. W Radzikowie średnia dla FDK wyniosła 28,7%. Zakres zmienności cechy był mniejszy i mieścił się w granicach od 18,5% (DANKO 2) do 37,3% (DC 06080-56). Średnie porażenia ziarna (FDK) dla obu lokalizacji wynosiło 35,8%. Zakres zmienności od 17,3 do 56,8% (tab. 2).

Współczynnik korelacji obliczony dla średnich z dwóch lokalizacji (Cerekwica i Radzików) pomiędzy indeksem porażenia kłosa (IFK) i liczbą ziarniaków z objawami fuzariozy (FDK) był nieistotny (tab. 4). W przypadku pszenżyta obserwuje się często bardzo niską korelację pomiędzy nasileniem porażenia kłosa a uszkodzeniem ziarniaków i akumulacją toksyn (Miedaner i in., 2004). W przypadku pszenicy współczynniki te są

przeważnie wyższe, przy znacznej zmienności w zależności od badanego materiału (Tamburic-Ilincic i in., 2011).

Tabela 3

Akumulacja trichotecen z grupy B (DON i pochodne, NIV) oraz zearalenonu (ZEA) w ziarniakach genotypów pszenżyta ozimego inokulowanego zawiesiną trzech szczepów *F. culmorum*
Concentrations of type B trichothecenes (DON and acetyl derivatives, NIV) and zearalenone (ZEA) in grain of winter triticale genotypes inoculated with mixture of three strains of *F. culmorum*

L.p. No.	Genotyp Line	DON (mg/kg)	3AcDON (mg/kg)	15AcDON (mg/kg)	NIV (mg/kg)	Suma trichotecen (mg/kg) Total trichothecenes	ZEA (µg/kg)
2	DS. 9	1,523	0,025	0,038	2,160	3,745	29
4	DS 1238	4,578	0,088	0,125	1,673	6,463	126
26	MAH 33881-14	2,224	0,050	0,025	4,436	6,735	55
3	MAH 33113-1	2,093	0,050	0,038	4,840	7,020	18
34	Fredro	3,194	0,038	0,125	4,295	7,651	117
31	MAH 32459-1	4,200	0,113	0,050	3,608	7,970	120
17	BOHD 1049-1	2,178	0,038	0,088	5,735	8,038	32
32	DANKO 2	4,486	0,063	0,050	3,534	8,133	0
15	MAH 33881-7	1,966	0,038	0,050	6,376	8,430	42
24	BOHD 1352-2	3,088	0,075	0,138	5,168	8,468	59
33	LM 21/11 (S)	4,286	0,100	0,125	4,299	8,810	102
1	DC 04294/04/1	4,263	0,175	0,088	4,290	8,815	333
18	DC 03326/06/2	4,054	0,063	0,113	4,655	8,884	103
7	BOH 1062-2	3,184	0,075	0,250	5,585	9,094	30
30	DANKO 4	4,966	0,100	0,038	4,028	9,131	23
27	DAST 27/10	4,304	0,063	0,150	4,784	9,300	136
11	BOH534-4	1,931	0,050	0,038	7,325	9,344	79
20	DANKO 8	4,555	0,125	0,063	4,610	9,353	49
25	DL 593/07	3,916	0,088	0,138	5,533	9,674	106
6	DL 446/08	5,196	0,163	0,163	4,835	10,356	112
37	MAH 34068-5 (S)	2,794	0,100	0,088	7,488	10,469	359
9	LD 121/08	5,005	0,063	0,088	5,539	10,694	135
36	BOH 1273-1 (S)	2,101	0,050	0,038	8,996	11,185	104
8	DC 04294/04/2	5,693	0,150	0,238	5,668	11,748	229
16	BOH 2472-1	2,341	0,050	0,050	9,938	12,379	58
10	MAH 34359-1	3,504	0,125	0,038	8,874	12,540	36
35	DAST 15/11 (S)	6,041	0,125	0,125	6,253	12,544	182
21	DC 06080-56	5,584	0,138	0,100	7,791	13,613	186
14	DD 436/07	5,085	0,113	0,113	8,634	13,944	393
12	MAH 33881-1/3	3,935	0,138	0,050	10,136	14,259	118
23	BOH 1351-1	2,268	0,088	0,100	12,399	14,854	20
5	MAH 33405-1	3,590	0,075	0,125	11,798	15,588	219
28	DANKO 7	6,314	0,200	0,125	9,835	16,474	110
13	BOHD 1186-1	6,844	0,225	0,075	11,080	18,224	45
29	MAH 33097-1	4,660	0,138	0,213	15,543	20,553	144
22	Borwo	7,200	0,213	0,200	15,424	23,036	150
19	BOH835-4	4,650	0,100	0,200	19,735	24,685	237
Średnia — Mean		3,994	0,099	0,104	7,213	11,411	119

Genotypy uszeregowane wg sumarycznej zawartości trichotecen z grupy B w ziarnie. Numery genotypów jak w tabeli 2
 Lines ranked by total concentration of type B trichothecens in grain. Line numbers correspond to those given in table 2

Powodem tych zależności, jak zasugerowali kanadyjscy badacze, jest fakt, że ziarno pszenżyta w porównaniu do ziarna pszenicy jest bardziej podatne na uszkodzenie przez grzyby z rodzaju *Fusarium* (Comeau i in., 2008; Langevin i in., 2009; Harpinder Randhawa,

informacja ustna). Tym bardziej, że ziarno pszenżyta jest delikatniejsze, w szczególności jego okrywa owocowo-nasienna i w związku z tym łatwiej ulega zasiedleniu. Podobne wyniki otrzymała prowadząc badania ziarniaków polskich odmian pszenżyta Packa i in. (2008), a wyniki potwierdzające większe porażenie ziarniaków pszenżyta niż pszenicy przez gatunki *Fusarium* uzyskali także inni badacze (Góral, 2007, 2009; Miedaner i in., 2004).

Dokładniejsza analiza regresji liniowej FDK wobec IFK wykazała, że pewna grupa genotypów charakteryzowała się wysokim uszkodzeniem ziarniaków pomimo niskiego lub średniego porażenia kłosa (rys. 1). Bez uwzględnienia tych genotypów współczynnik korelacji IFK z FDK był istotny i wynosił $r = 0,541$.

Ziarno z 37 badanych genotypów pszenżyta ozimego poddanych badaniom w dwóch lokalizacjach (Cerekwica i Radzików), analizowano pod względem zawartości toksyn fuzaryjnych: niwalenolu (NIV) i deoksyniwalenolu (DON) i zearalenonu (ZEA).

Mimo niewielkiego porażenia kłosów w roku 2013 stwierdzono wysokie stężenie toksyn w ziarniakach badanych genotypów pszenżyta (tab. 3). Zawartość DON wahała się od 1,528 mg/kg (DS.9) do 7,613 mg/kg (Borwo) — średnio 3,994 mg/kg. Stwierdzono również wysokie stężenie niwalenolu (NIV), które kształtowało się w zakresie od 1,673 mg/kg (DS.9) do 19,735 mg/kg (BOH 835-4) — średnio 7,213 mg/kg (tab. 3).

Tabela 4

Korelacje pomiędzy porażeniem kłosa (IFK) i ziarna (FDK), redukcją parametrów struktury plonu oraz ilością akumulowanych w ziarnie trichotecen z grupy B (DON i pochodne, NIV) oraz zearalenonu (ZEA)
Correlations between FHB index (FHBi), FDK, reduction of yield parameters, and concentrations of type B trichothecenes (DON and acetyl derivatives, NIV) and zearalenone (ZEA) in grain

	IFK FHBi (%)	FDK (%)	RMZK Yield red. (%)	RLZK Kernel no. red. (%)	RMTZ TKW red. (%)	DON (mg/kg)	3Ac DON (mg/kg)	15Ac DON (mg/kg)	NIV (mg/kg)	Σtricho- tecen Trichothe- cenes (mg/kg)
FDK	0,206									
RMZK Yield red.	0,051	0,476								
RLZK Kernel no. red.	-0,208	0,368	0,815							
RMTZ TKW red.	0,404	0,138	0,347	-0,183						
DON	0,039	0,272	-0,152	-0,240	-0,004					
3AcDON	-0,028	0,479	0,154	0,028	0,070	0,822				
15AcDON	-0,023	0,311	0,035	-0,033	0,015	0,546	0,414			
NIV	0,074	0,697	0,560	0,339	0,322	0,177	0,377	0,247		
Σtrich. Trichothe- cenes	0,068	0,706	0,407	0,210	0,236	0,546	0,651	0,441	0,910	
ZEA	0,076	0,601	0,270	0,218	-0,075	0,314	0,365	0,443	0,269	0,353

Wyróżnione współczynniki istotne statystycznie na poziomie $\alpha < 0,05$; Coefficients in bold are significant at $P < 0.05$

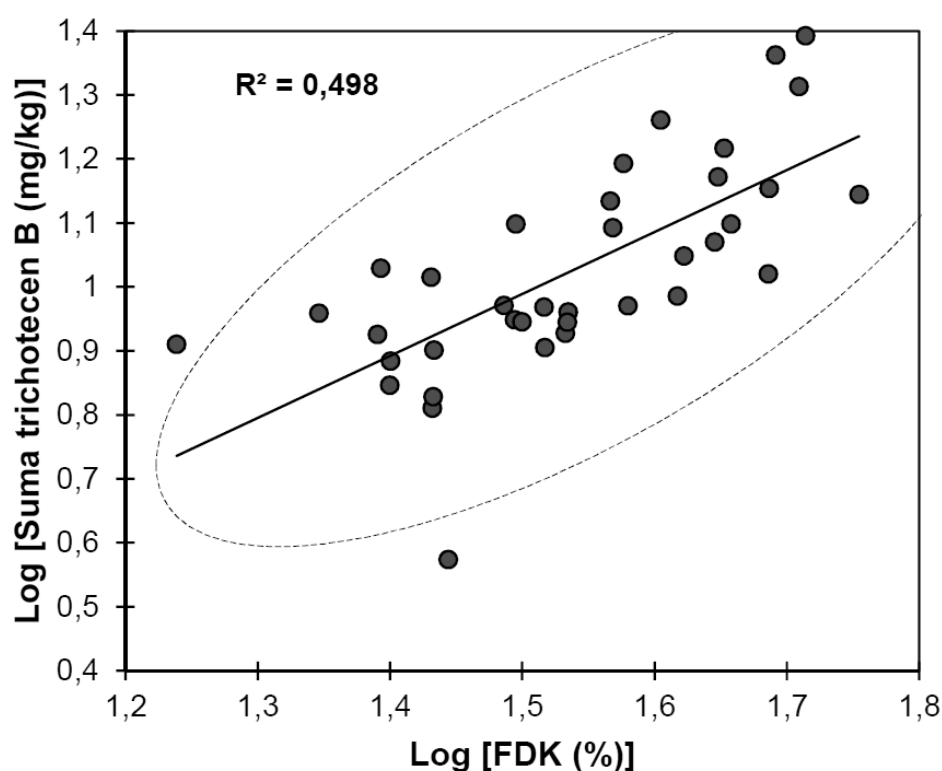
Zmienne transformowane logarytmicznie; Variables log-transformed

MZK — masa ziarna z kłosa, LZK — liczba ziarniaków w kłosie, MTZ — masa tysiąca ziarniaków

Yield — grain yield per head, kernel number — kernel number per head, TKW — 1000 kernel weight

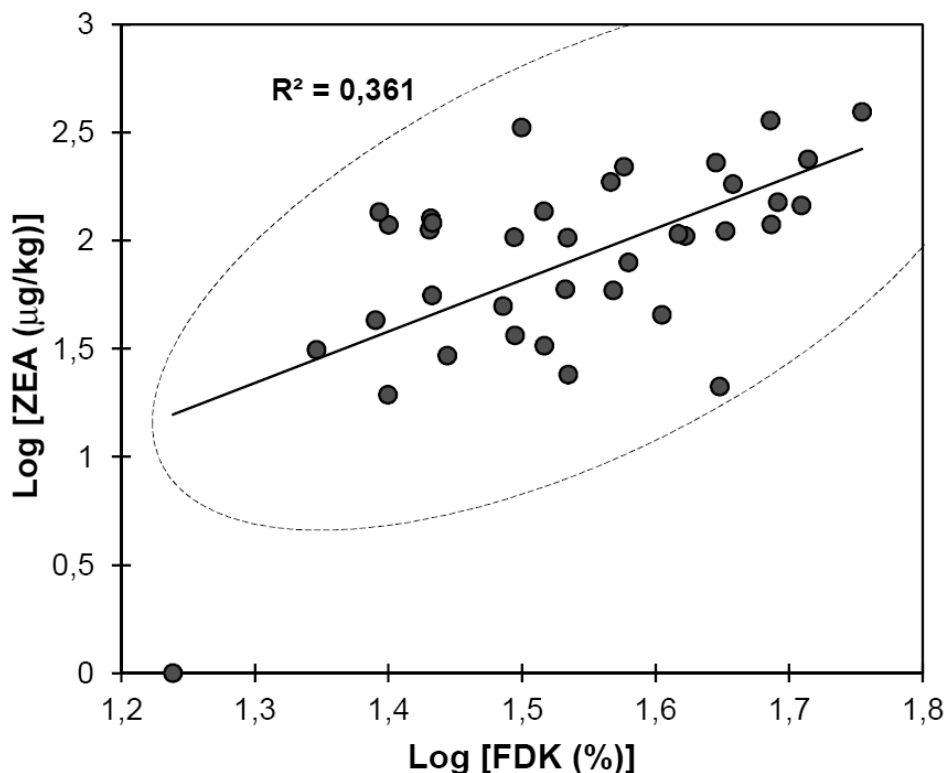
Stężenie pochodnych acetylowych DON (3AcDON, 15AcDON) w ziarnie było niskie i wyniosło średnio odpowiednio 0,099 mg/kg oraz 0,104 mg/kg. Pochodne DON stanowiły średnio 5% zawartości DON. Wartość ta była wyższa dla dwóch rodów o niskim stężeniu DON w ziarnie: BOH 1351-1 (8,3%) i BOH 1062-2 (10,2%). Obecności ZEA nie stwierdzono w ziarnie jednego rodu — DANKO 2 (tab. 3). W ziarnie pozostałych rodów stężenie ZEA kształtowało się w granicach od 18 µg/kg (MAH 33113-1) do 393 µg/kg (DD 436/07) — średnio 119 µg/kg.

Stwierdzono istotną statystycznie korelację pomiędzy sumą trichotecen i FDK ($r = 0,706$) oraz sumą trichotecen a redukcją masy ziarna z kłosa ($r = 0,407$). Zawartość niwalenolu i zearalenonu również istotnie korelowała z %FDK (procentem porażenia ziarna) $r = 0,697$ i $r = 0,339$ (tab. 4, rys. 2). Podobne korelacje pomiędzy porażeniem ziarna (FDK) a kumulacją DON w ziarniakach 29 polskich odmian pszenżyta uzyskali Góral i Ochodzki (2006).



Rys. 2. Zależność pomiędzy stopniem uszkodzenia ziarniaków (FDK) a zawartością trichotecen z grupy B (DON, pochodne DON, NIV) w ziarnie 37 genotypów pszenżyta ozimego
 Fig. 2. Relationships between *Fusarium* damaged kernels and concentration of B group trichothecenes (DON, derivatives of DON, NIV) in kernels of 37 winter triticale lines

Autorzy niniejszej pracy realizowali równoległe doświadczenie infekcyjne z pszenicą ozimą (dane niepublikowane). W doświadczeniu tym uzyskano istotne współczynniki korelacji IFK z FDK ($r = 0,753$) oraz IFK z sumą trichotecen ($r = 0,401$) i ZEA ($r = 0,688$). Uszkodzenie ziarniaków pszenicy (FDK) korelowało istotnie z zawartościami powyższych toksyn fuzaryjnych, jednakże współczynniki korelacji były zbliżone do tych uzyskanych dla pszenżyta (odpowiednio $r = 0,401$ i $r = 0,572$).

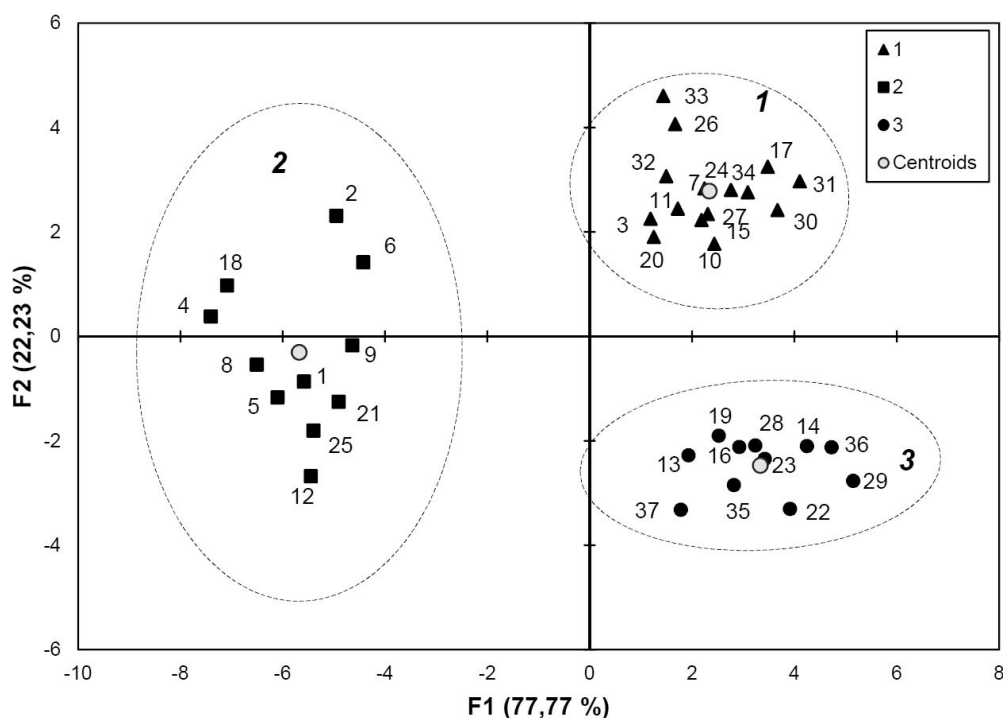


Rys. 3. Zależność pomiędzy stopniem uszkodzenia ziarniaków (FDK) a zawartością zearalenonu w ziarnie 37 genotypów pszenżyta ozimego
 Fig. 3. Relationships between *Fusarium* damaged kernels and concentration of zearalenone in kernels of 37 winter triticale lines

Ze względu na złożoność problemu odporności na fuzariozę kłosów oraz różne jednostki miar poszczególnych cech, uzyskane wyniki poddano statystycznej analizie k-średnich. Genotypy zostały pogrupowane na podstawie odporności na porażenia kłosa, uszkodzenie ziarniaków, sumarycznej zawartości trichotecen z grupy B i zearalenonu oraz redukcji komponentów plonu w obu lokalizacjach.

Analiza k-średnich pozwoliła na wyróżnienie trzech grup genotypów pszenżyta (rys. 4). Grupa pierwsza (1) charakteryzowała się średnim porażeniem kłosa oraz niskim

uszkodzeniem ziarniaków i niską zawartością toksyn fuzaryjnych (rys. 4, tab. 5). Redukcja plonu ziarna oraz MTZ była na średnim poziomie, natomiast najniższa w tej grupie była redukcja liczby ziarniaków z kłosa. Grupa druga (2) charakteryzowała się najniższym średnim porażeniem kłosa, czemu towarzyszyło wyższe niż w grupie 1 uszkodzenie ziarniaków. Wyższa też była w tej grupie zawartość toksyn w ziarnie. Redukcja plonu i liczby ziarniaków nie różniła się wyraźnie od tej dla grupy 1. Niższa była natomiast redukcja MTZ. W grupie trzeciej (3) znalazły się genotypy o najwyższej podatności na porażenie kłosa, uszkodzenie ziarniaków i akumulację toksyn. W grupie tej najwyższe były też redukcje komponentów plonu.



Rys. 4. Grupowanie genotypów pszenżyta na podstawie analizy k-średnich przeprowadzonej dla zmiennych: IFK, FDK, suma DON (DON + pochodne), NIV, ZEA, oraz redukcje MZK, LZK i MTZ; z obu lokalizacji. Numery genotypów odpowiadają podanym w tabelach

Fig. 4. Clustering of triticale lines based on *k-means* analysis for FHBi, FDK, sum of DON (DON + derivatives), NIV, ZEA, and reductions of yield components in both experimental locations. Line numbers correspond to those given in tables

Przedstawione wstępne badania odporności pszenżyta na fuzariozę kłosów pokazują, że jest możliwe wyselekcjonowanie genotypów stabilnie odpornych na fuzariozę kłosów, wymaga to jednak prowadzenia dalszych doświadczeń w różnych środowiskach (lata, lokalizacje) oraz badanie wielu cech pszenżyta związanych z odpornością. Pozwoli na

wyjaśnienie tendencji pszenżyta do akumulowania znacznej ilości mikotoksyn w ziarniakach przy niewielkim porażeniu kłosa i ziarna.

Tabela 5

Średnie dla grup genotypów przedstawionych na wykresie 4
Means of groups of triticale lines presented in the Figure 4

Grupa Cluster	Liczba genotypów Number of lines	IFK FHBi (%)	FDK (%)	DON (mg/kg)	NIV (mg/kg)	ZEA (µg/kg)	RMZK Yield red. (%)	RLZK Kernel no. red. (%)	RMTZ TKW red. (%)
1	15	9,5	29,1	3,501	5,166	60	55,4	36,6	28,4
2	11	6,2	34,4	4,524	5,825	154	53,1	40,6	17,9
3	11	10,9	46,5	4,820	11,393	164	61,7	44,6	29,2
Suma — Sum Średnia — Mean	38	9,0	35,8	4,197	7,213	119	56,6	40,2	25,5

WNIOSKI

1. Badane genotypy pszenżyta różniły się istotnie pod względem odporności na porażenie kłosa i uszkodzenie ziarniaków przez *Fusarium culmorum*.
2. Stwierdzono wysokie stężenie toksyn fuzaryjnych (trichoteceny z grupy B, zearalenon) w ziarnie badanych genotypów pszenżyta.
3. Indeks fuzariozy kłosów nie korelował istotnie z liczbą uszkodzonych ziarniaków oraz stężeniami toksyn fuzaryjnych w ziarnie.
4. Stwierdzono istotną statystycznie korelację pomiędzy liczbą ziarniaków uszkodzonych przez *Fusarium* a sumarycznym stężeniem trichotecen z grupy B i stężeniem zearalenonu w ziarnie.
5. Zidentyfikowano genotypy o niskim porażeniu kłosa i uszkodzeniu ziarniaków oraz o niskiej akumulacji toksyn fuzaryjnych w ziarnie.

LITERATURA

- Bai G. H., Plattner R., Desjardines A., Kolb F. 2001. Resistance to *Fusarium* head blight and deoxynivalenol accumulation in wheat. *Plant Breed.* 120: 1 — 6.
- Buerstmayr H., Steiner B., Hartl L., Griesser M., Angerer N., Lengauer D., Miedaner T., Schneider B., Lemmens M. 2003. Molecular mapping of QTLs for *Fusarium* head blight resistance in spring wheat. II. Resistance to fungal penetration and spread. *Theor. Appl. Genet.* 107: 503 — 508.
- Comeau A., Langevin F., Savard M. E., Gilbert J., Dion Y., Rioux S., Martin S.A., Haber S., Voldeng H., Fedak G., Somers D., Eudes F. 2008. Improving *Fusarium* head blight resistance in bread wheat and triticale for Canadian needs. *Cereal Res. Commun.* 36 (6): 91 — 92.
- Góral T., Busko M., Cichy H., Jackowiak H., Perkowski J. 2002. Resistance of winter triticale lines and cultivars to *Fusarium* head blight and deoxynivalenol accumulation in kernels. *J. Appl. Genet.* 43A: 237 — 248.
- Góral T. 2007. Ocena odporności rodów pszenicy i pszenżyta na fuzariozę kłosów, pleśń śniegową i rdzę brunatną w Radzikowie w 2006 roku. *Komunikat. Biul. IHAR* 246: 31 — 44.
- Góral T. 2009. Odporność odmian pszenżyta ozimego na fuzariozę kłosów powodowaną przez grzyb *Fusarium culmorum*. *Biul. IHAR* 254: 41 — 50.

- Góral T., Ochodzki P. 2006. Resistance of Polish winter triticale cultivars to *Fusarium* head blight and accumulation of *Fusarium*-mycotoxins in grain. Proc. of 16th International Triticale Symposium, September 3–7 2006, Stellenbosch, South Africa: 140 — 143.
- Góral T., Wiśniewska H., Ochodzki P., Walentyn-Góral D., Kwiatek M. 2013. Reaction of winter triticale breeding lines to *Fusarium* head blight and accumulation of *Fusarium* metabolites in grain in two environments under drought conditions. Cereal Res. Commun. 4 (1): 106 — 115.
- Langevin F., Eudes F., Comeau A. 2004. Effect of trichothecenes produced by *Fusarium graminearum* during *Fusarium* head blight development in six cereal species. Eur. J. Plant Path. 110: 735 — 746.
- Langevin F., Eudes F., Comeau A., Dion Y., Rioux S., Randhawa H., Fedak G., Cao W., Gilbert J., Lachance C., Salmon D. 2009. Sources of type II *Fusarium* resistance for triticale breeding. Proceedings of the 6th Canadian Workshop on *Fusarium* Head Blight, November 1–4, Ottawa, Canada: 66.
- Mesterhazy A. 1995. Types and components of resistance to *Fusarium* head blight of wheat. Plant Breed. 114: 377 — 386.
- Mesterhazy A., Bartok T., Mirocha C.G., Komoroczy R. 1999. Nature of wheat resistance to *Fusarium* head blight and the role of deoxynivalenol for breeding. Plant Breed. 118: 97 — 110.
- Mesterhazy A. 2002. Relationship between growth and mycotoxin production by *Fusarium* species, biocides and environment. Europ. J. Plant Pathol. 1008 (7): 685 — 690.
- Miedaner T., Heinrich N., Schneider B., Oettler G., Rohde S., Rabenstein F. 2004. Estimation of deoxynivalenol (DON) content by symptom rating and exoantigen content for resistance selection in wheat and triticale. Euphytica 139:129 — 132.
- Miedaner T., Reinbrecht C., Lauber U., Schollenberger M., Geiger H.H. 2001. Effects of genotype and genotype x environment interaction on deoxynivalenol accumulation and resistance to *Fusarium* head blight in rye, triticale, and wheat. Plant Breed. 120:97 — 105.
- Packa D., Jackowiak H., Góral T., Wiwart M., Perkowski J. 2008. Scanning electron microscopy of *Fusarium*-infected kernels of winter triticale (*x Triticosecale* Wittmack). Seed Sci. Biotech. 2: 27 — 31.
- Stepień Ł., Popiel D., Koczyk G., Chełkowski J. 2008. Wheat-infecting *Fusarium* species in Poland — their chemotypes and frequencies revealed by PCR assay J. Appl. Genet. 49: 433 — 441.
- Tamburic-Ilincic, L., Falk D. E., Schaafsma A. 2011. *Fusarium* ratings in Ontario Winter Wheat Performance Trial (OWWPT) using an index that combines *Fusarium* head blight symptoms and deoxynivalenol levels. Czech J. Genet. Plant Breed. 47: S115 — S122.
- Veitch R. S., Caldwell C. D., Martin R. A., Lada R., Salmon D., Anderson, D. M., MacDonald D. 2008. Susceptibility of winter and spring triticales to *Fusarium* head blight and deoxynivalenol accumulation. Can. J. Plant Sci. 88: 783 — 788.
- Willyerd K. T., Li, C., Madden, L. V., Bradley, C. A., Bergstrom, G. C., Sweets, L. E., McMullen, M., Ransom, J. K., Grybauskas, A., Osborne, L., Wegulo, S. N., Hershman, D. E., Wise, K., Bockus, W. W., Groth, D., Dill-Macky, R., Milus, E., Esker, P. D., Waxman, K. D., Adey, E. A., Ebelhar, S. E., Young, B. G., and Paul, P. A. 2012. Efficacy and stability of integrating fungicide and cultivar resistance to manage *Fusarium* head blight and deoxynivalenol in wheat. Plant Dis. 96: 957 — 967.