

***Fusarium temperatum* znaczenie i szkodliwość w uprawie kukurydzy, poszukiwanie i charakterystyka źródeł odporności**

Kierownik zadania: prof. dr hab. Wojciech Wakuliński

Zadanie nr 92 realizowane na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej, dofinansowane na podstawie rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 29 lipca 2015r. w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa (Dz. U., poz. 1170).

Grzyby z rodzaju *Fusarium* uważane są za jedne z najistotniejszych patogenów kukurydzy. Wynika to z powszechnego występowania *Fusarium* spp., dużej agresywności tych grzybów jak również możliwości wytwarzania przez te patogeny znaczących ilości metabolitów wtórnych. Szczególnie dużo uwagi poświęca się fuzariozie kolb z uwagi na wpływ tej choroby na redukcję plonu a także na fizyczną, fizjologiczną i fitosanitarną jakość ziarniaków. Etiologia fuzariozy kolb kukurydzy jest złożona. Jako przyczynę choroby wymienianych jest szereg gatunków *Fusarium* w tym: *F.acuminatum*, *F.anthophilum*, *F.avenaceum*, *F.culmorum*, *F.equiseti*, *F.graminearum*, *F.oxysporum*, *F.poa*, *F.proliferatum*, *F.subglutinans*, *F.sporotrichioides*, *F.tricinctum*, *F.verticillioides*. Gatunki te różnią się w istotnym stopniu patogenicznością, spektrum biosyntetyzowanych metabolitów, jak też objawami. O ile ocena znaczenia wymienionych gatunków była przedmiotem licznych analiz i opracowań, o tyle wiedza na temat porażenia kukurydzy (odmian, linii hodowlanych czy też genotypów) przez *Fusarium temperatum* jest fragmentaryczna. Podjęte zostały badania, których celem była:

- Ocena podatności linii hodowlanych *Z.mays* na porażenie przez *F.temperatum* i wytypowanie form charakteryzujących się niską podatnością na porażenie oraz ocena linii hodowlanych kukurydzy pod kątem zawartości amylozy w ziarniakach
- Analiza profilu metabolitów wtórnych (mykotoksyn) występujących w materiale roślinnym porażonym przez *F.temperatum*
- Analiza populacji *F.temperatum* w zakresie cech istotnych w patogenezie i epidemiologii fuzariozy kolb kukurydzy

Izolaty *F.temperatum* pochodziły z ziarniaków uzyskanych z kolb wykazujących objawy fuzariozy rozwijającej się w następstwie infekcji naturalnych. Izolacja i identyfikacja była prowadzona z zastosowaniem standardowych metod mających zastosowanie w diagnostyce mykologicznej *Fusarium*. Wiarygodność diagnostyki była potwierdzana molekularnie. Analiza molekularna opierała się na sekwencjonowaniu *EF-1a* oraz β -tubuliny uznawanych za podstawowe markery bardingu.

Profil metabolitów wtórnych syntetyzowanych przez *F.temperatum* zbadano dla 70 izolatów, dla których biosyntezę metabolitów prowadzono na ziarniakach kukurydzy. Analiza została przeprowadzona w kierunku występowania fumonizyn (FB_1 i FB_2), pochodnych heptadepsyptydowych (BEA i ENN) oraz ergosterolu. Na kukurydzy, żaden z przebadanych 70 izolatów grzyba nie wytwarzał fumonizyn. Spośród analizowanych izolatów *F.temperatum* wszystkie wytwarzały bowerycyne (BEA) oraz śladowe ilości eniatyny (ENN), w przypadku 9 izolatów. Średni poziom BEA dla populacji przebadanych izolatów wynosił 73,67 ppm. Ilościowo najwięcej BEA biosyntetyzował izolat Pft 160 (565,70 ppm), najmniej zaś izolaty: Pft 110, 131, 162, 164, 165, 166 (0,00 ppm). Poziom ergosterolu dla populacji przebadanych izolatów wahał się od 1,30 ppm do 224,20 ppm.

Ocenę patogeniczności przeprowadzono metodą „toothpicks” dla 70 izolatów *F.temperatum*. Inokulowane były 7 tygodniowe rośliny kukurydzy poprzez wprowadzenie w łodygę wykałaczką przerośniętej grzybnia badanego izolatu. Po okresie 2 tygodni od momentu inokulacji rośliny były ścinane, pędy krojone a rozmiar nekrozy mierzony. Aczkolwiek wszystkie izolaty powodowały zmiany chorobowe inokulowanych roślin, stwierdzono istotne różnicowanie tej cechy w obrębie

badanej populacji patogenów. Izolatami dającymi najbardziej rozległe zmiany na pędach inokulowanych roślin były: PFT-158, PFT-156, PFT-117, PFT-125 oraz PFT-136. Izolaty te użyte zostały do oceny podatności genotypów kukurydzy na *F.temperatum* w doświadczeniach polowych.

Materiał badawczy do badań z zakresu podatności *Zea mays* na porażenie przez *F.temperatum* stanowiły linie kukurydzy *Zea mays* ssp. *indentata* (dent) oraz *Zea mays* ssp. *indurata* (flint). Doświadczenie było realizowane na terenie pól doświadczalnych IHAR w Radzikowie, Hodowli Roślin Smolice (HRS) i Małopolskiej Hodowli Roślin Oddział w Kobierzycach (MHROK), gdzie ocenie poddawano odpowiednio 120, 60 i 60 obiektów. Zgodnie z założeniami podatność każdego genotypu na porażenie przez *F.temperatum* była oceniana w dwóch lokalizacjach. Inokulum w doświadczeniu infekcyjnym stanowiła zawiesina zarodników o mianie 10^6 / ml, wprowadzana do kolb metodą „nail punch”. Inokulację kukurydzy przeprowadzano w fazie R2 jej rozwoju. Stopień porażenia inokulowanych kolb kukurydzy szacowano w fazie dojrzałości zbiorczej w oparciu o 6 punktową skalę. Zakres zmienności cechy dla badanych genotypów wahał się od 0,75 do 3,07. Stopień porażenia materiałów pochodzących z hodowli MHR Kobierzyce (1,41) i HRS Smolice (1,44) różnił się nieznacznie. Stwierdzono istotny wpływ warunków środowiska na stopień porażenia analizowanych genotypów kukurydzy. Średni stopień porażenia materiałów badanych w Radzikowie wynosił 1,24 i był istotnie mniejszy niż w Kobierzycach (1,60) i Smolicach (1,62). Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy stopniem porażenia form flint i dent w żadnej z miejscowości, w których przeprowadzono doświadczenia.

Określenie procentowego udziału amylozy w ogólnej zawartości skrobi przeprowadzono dla 240 prób ziarniaków kukurydzy, pochodzących z doświadczeń założonych na terenie pól doświadczalnych Hodowli Roślin Smolice (60 prób) Sp. z o. o. Grupa IHAR oraz Małopolskiej Hodowli Roślin oddział w Kobierzycach (60 prób) oraz Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin IHAR Radzików (120 prób). Zakres zmienności tej cechy wahał się od 21,33% do 41,17% i od 24,38% do 40,86% odpowiednio dla form typu flint i dent.

Ziarniaki kukurydzy pochodzące z doświadczeń inokulacyjnych analizowano także pod kątem zawartości ergosterolu oraz bowerycyny (BEA). Łącznie analizami objęto 240 prób ziarniaków pochodzących z doświadczeń polowych prowadzonych na terenie wyżej wymienionych lokalizacji. W porażonych ziarniakach stwierdzono występowanie bowerycyny. W materiałach typu dent hodowli Smolice, pochodzących z doświadczenia zrealizowanego w Smolicach i Radzikowie, średni poziom tego metabolitu wynosił odpowiednio $3,59 \pm 2,03$ ppm i $2,25 \pm 2,13$ ppm. W próbach kukurydzy typu flint pochodzących z doświadczenia realizowanego w wyżej wymienionych lokalizacjach średni poziom BEA wynosił odpowiednio $3,25 \pm 2,45$ ppm i $2,62 \pm 1,53$ ppm. Natomiast w materiałach typu dent hodowli Kobierzyce, pochodzących z doświadczenia realizowanego w Kobierzycach i Radzikowie, średni poziom bowerycyny wynosił odpowiednio $5,54 \pm 1,44$ ppm i $3,00 \pm 5,12$ ppm. W przypadku prób kukurydzy typu flint hodowli Kobierzyce średni poziom tego związku wynosił $5,83 \pm 3,38$ (Kobierzyce) i $3,43 \pm 2,49$ ppm (Radzików).

W podsumowaniu

- Sekwencje *EF-1a* oraz β tubuliny umożliwiają jednoznaczną diagnostykę *F.temperatum*
- Gatunek *F.temperatum* jest istotnym producentem pochodnych bowerycyny
- Dość skąpe i sprzeczne doniesienia literaturowe w zakresie spektrum biosyntetyzowanych metabolitów przez *F.temperatum* wskazują na potrzebę kontynuowania prac w tym zakresie
- *F.temperatum* jest gatunkiem, którego patogeniczność jest porównywalna z gatunkami *Fusarium* spp., których występowanie powoduje istotne lub bardzo istotne straty w produkcji roślin zbożowych