

Wyniki

Analiza stopnia porażenia kolb kukurydzy przez *F.temperatum*

Badaniami objęto 120 genotypów kukurydzy wytypowanych do badań przez dwie stacje hodowlane Hodowli Roślin Smolice Sp. z o. o. Grupa IHAR (HRS Smolice) i Małopolskiej Hodowli Roślin oddział w Kobierzycach (MHR Kobierzyce). Doświadczenie było realizowane na terenie pól doświadczalnych Państwowego Instytutu Badawczego IHAR w Radzikowie, HRS Smolice oraz MHR Kobierzyce, 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.

Uzyskane wyniki stopnia porażenia kukurydzy zostały przedstawione w tabeli 1.1. Zakres zmienności cechy dla badanych genotypów wahał się od 0,75 (dla genotypu S-47) do 3,07 w przypadku genotypu o numerze kodowym K-37.

Stopień porażenia materiałów pochodzących z hodowli MHR Kobierzyce (1,41) i HRS Smolice (1,44) różnił się nieznacznie, i różnica ta przy $\alpha = 0,05$ nie była statystycznie istotna ($F=0,74$ $p=0,3906$)

W przypadku materiałów pochodzących z hodowli MHR Kobierzyce zmienność porażenia kolb badanych genotypów wahała się od 0,80 dla genotypu o numerze kodowym K-51 do 3,70 dla genotypu o numerze K-37 (**tab. 1.2**). Formy flint pochodzące z tej hodowli były porażone w zakresie od 0,84 do 2,54 (**ryc. 1.1**), natomiast dent od 0,80 do 3,07 (**ryc. 1.2**).

Zakres zmienności badanej cechy dla materiałów pochodzących z hodowli HRS Smolice wahał się od wartości 0,75 dla genotypu o numerze kodowym S - 47 do 2,52 dla genotypu S-34 (**tab. 1.3**). Formy flint pochodzące z tej hodowli były porażone w zakresie 0,80 do 2,38 (**ryc. 1.3**), natomiast dent od 0,75 do 2,52 (**ryc.1.4**).

Na podstawie przeprowadzonej analizy wariancji, z ryzykiem błędu $\alpha = 0,05$ stwierdzono istotny wpływ warunków środowiska na stopień porażenia badanych genotypów kukurydzy ($F=78,04$ $p=0,000$). Średni stopień porażenia materiałów badanych w Radzikowie wyosił 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 były zakładane doświadczenia. Porażenie form dent i flint wynosiło odpowiednio w Smolicach 1,67 i 1,57 ($F=2,95$ $p=0,086$), Kobierzycach 1,58 i 1,62 ($F=0,91$, $p=0,340$) oraz Radzikowie ($F=1,22$ $p=0,345$)

Tab. 1.1. Średni stopień porażenia 120 genotypów kukurydzy przez *F.temperatum*

Lp	Genotyp	średni stopień porażenia		Lp	Genotyp	średni stopień porażenia	
1	S-1	0,88	± 0,85	31	S-31	1,16	± 1,00
2	S-2	1,11	± 0,87	32	S-32	1,33	± 0,97
3	S-3	1,09	± 0,86	33	S-33	1,51	± 1,17
4	S-4	1,11	± 1,04	34	S-34	2,52	± 1,49
5	S-5	1,26	± 1,01	35	S-35	0,95	± 0,75
6	S-6	1,41	± 1,13	36	S-36	0,88	± 0,48
7	S-7	1,52	± 0,87	37	S-37	1,64	± 1,06
8	S-8	1,23	± 0,92	38	S-38	2,46	± 1,19
9	S-9	1,22	± 1,11	39	S-39	1,88	± 1,36
10	S-10	1,21	± 0,81	40	S-40	2,05	± 1,05
11	S-11	1,20	± 1,05	41	S-41	1,42	± 1,31
12	S-12	1,13	± 0,89	42	S-42	2,15	± 1,10
13	S-13	1,93	± 1,51	43	S-43	1,43	± 0,94
14	S-14	1,43	± 1,06	44	S-44	1,03	± 0,74
15	S-15	1,71	± 0,94	45	S-45	0,89	± 0,81
16	S-16	1,95	± 0,96	46	S-46	1,14	± 1,03
17	S-17	1,13	± 0,76	47	S-47	0,75	± 0,75
18	S-18	1,06	± 0,75	48	S-48	1,00	± 1,10
19	S-19	1,83	± 1,10	49	S-49	1,34	± 1,02
20	S-20	1,94	± 1,27	50	S-50	0,79	± 0,92
21	S-21	1,53	± 0,86	51	S-51	1,21	± 1,13
22	S-22	2,08	± 1,11	52	S-52	1,47	± 0,95
23	S-23	2,10	± 0,98	53	S-53	1,50	± 1,03
24	S-24	1,12	± 0,70	54	S-54	2,11	± 1,14
25	S-25	2,05	± 1,30	55	S-55	1,16	± 0,82
26	S-26	0,80	± 0,81	56	S-56	0,85	± 0,85
27	S-27	1,63	± 1,08	57	S-57	1,75	± 1,21
28	S-28	2,38	± 1,60	58	S-58	1,22	± 1,10
29	S-29	0,97	± 0,83	59	S-59	1,29	± 1,17
30	S-30	0,85	± 0,76	60	S-60	1,50	± 1,19

Tab. 1.1 cd. Średni stopień porażenia 120 genotypów kukurydzy przez *F.temperatum*

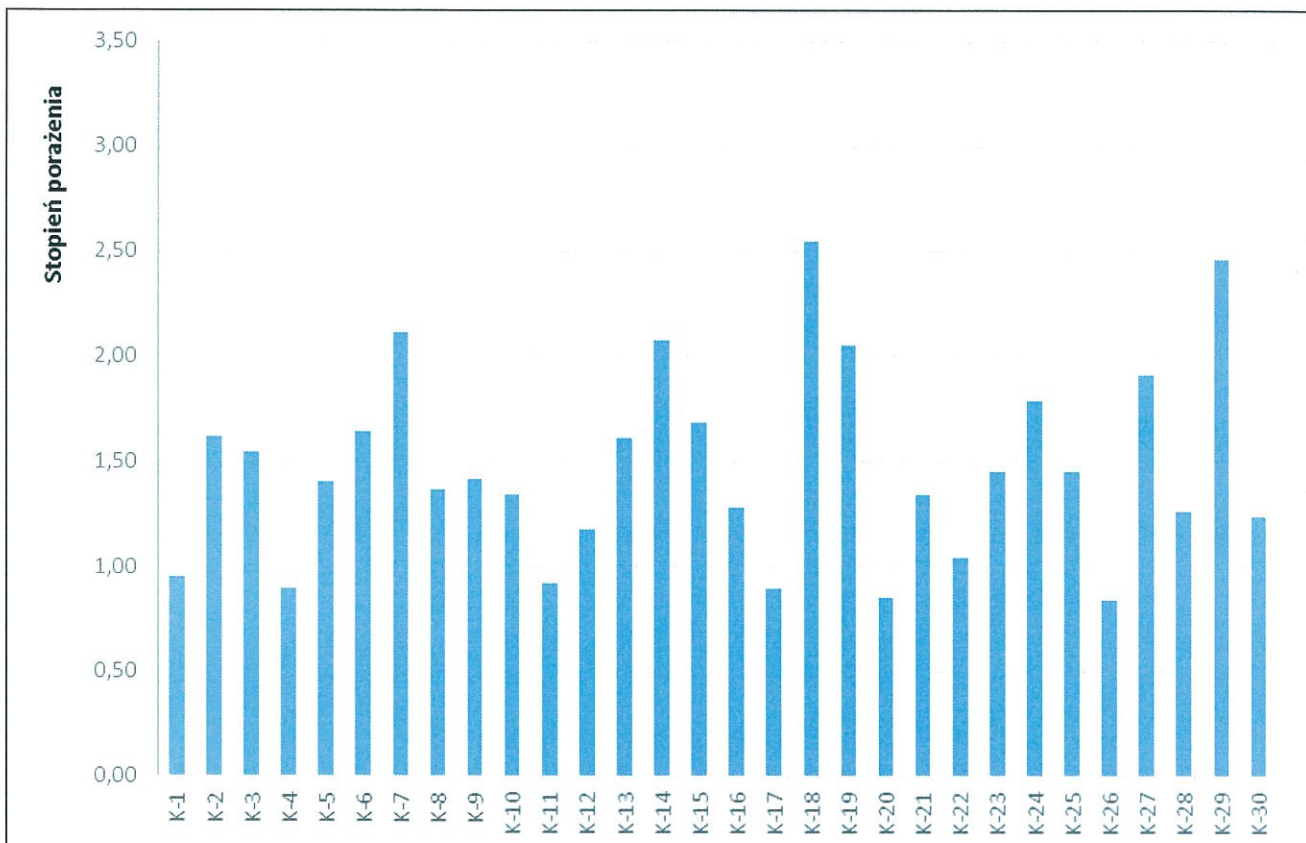
Lp	Genotyp	średni stopień porażenia		Lp	Genotyp	średni stopień porażenia	
61	K-1	0,95	± 0,76	91	K-31	1,32	± 0,39
62	K-2	1,62	± 0,82	92	K-32	1,68	± 1,51
63	K-3	1,55	± 0,79	93	K-33	1,00	± 0,43
64	K-4	0,90	± 0,72	94	K-34	1,84	± 0,62
65	K-5	1,41	± 0,93	95	K-35	1,69	± 0,53
66	K-6	1,64	± 0,91	96	K-36	1,28	± 0,31
67	K-7	2,11	± 0,75	97	K-37	3,07	± 0,31
68	K-8	1,37	± 0,77	98	K-38	2,50	± 0,77
69	K-9	1,42	± 0,73	99	K-39	1,02	± 0,21
70	K-10	1,34	± 0,78	100	K-40	2,31	± 1,10
71	K-11	0,92	± 0,63	101	K-41	1,00	± 0,21
72	K-12	1,18	± 0,75	102	K-42	2,15	± 0,68
73	K-13	1,61	± 0,84	103	K-43	1,34	± 0,53
74	K-14	2,07	± 1,27	104	K-44	1,45	± 0,63
75	K-15	1,68	± 0,93	105	K-45	2,00	± 1,17
76	K-16	1,28	± 0,70	106	K-46	0,95	± 0,65
77	K-17	0,89	± 0,76	107	K-47	1,30	± 0,50
78	K-18	2,55	± 0,51	108	K-48	1,23	± 0,34
79	K-19	2,05	± 1,30	109	K-49	0,88	± 0,50
80	K-20	0,85	± 0,48	110	K-50	1,65	± 0,52
81	K-21	1,34	± 0,84	111	K-51	0,80	± 0,46
82	K-22	1,04	± 0,92	112	K-52	1,08	± 0,72
83	K-23	1,45	± 0,93	113	K-53	0,95	± 0,31
84	K-24	1,79	± 1,08	114	K-54	0,92	± 0,23
85	K-25	1,45	± 0,88	115	K-55	0,81	± 0,35
86	K-26	0,84	± 0,52	116	K-56	1,08	± 0,48
87	K-27	1,91	± 0,98	117	K-57	0,95	± 0,19
88	K-28	1,26	± 0,64	118	K-58	1,33	± 0,75
89	K-29	2,46	± 1,02	119	K-59	1,13	± 0,21
90	K-30	1,24	± 0,59	120	K-60	1,79	± 0,96

Tab. 1.2. Stopień porażenia genotypów kukurydzy przez *F.temperatum*, wartości średnie dla materiałów hodowli Kobierzyce z wyróżnionymi grupami jednorodnymi, dla form flint (K1- K30) i dent (K31- K60), na podstawie oceny przeprowadzonej w Kobierzycach i Radzikowie

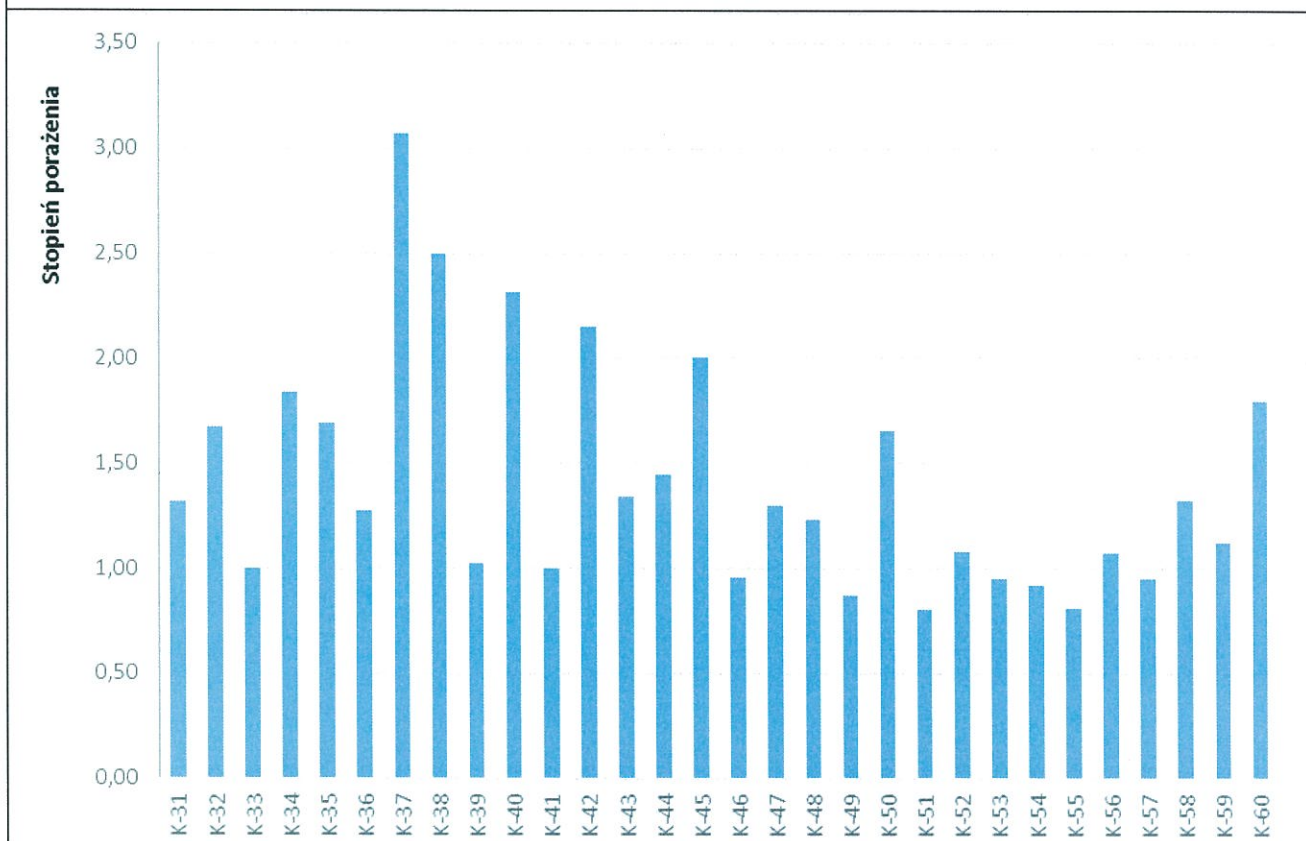
Lp	geotyp	stopień porażenia	Lp	geotyp	stopień porażenia
1	K-1	0,95 a-d	31	K-31	1,32 d-g
2	K-2	1,62 i-k	32	K-32	1,68 i-j
3	K-3	1,55 g-j	33	K-33	1,00 a-d
4	K-4	0,90 a-c	34	K-34	1,84 j-l
5	K-5	1,41 e-i	35	K-35	1,69 i-k
6	K-6	1,64 i-k	36	K-36	1,28 c-g
7	K-7	2,11 m-n	37	K-37	3,07 o
8	K-8	1,37 e-i	38	K-38	2,50 n
9	K-9	1,42 f-i	39	K-39	1,02 a-f
10	K-10	1,34 e-i	40	K-40	2,31 m-n
11	K-11	0,92 a-d	41	K-41	1,00 a-e
12	K-12	1,18 a-f	42	K-42	2,15 l-m
13	K-13	1,61 h-k	43	K-43	1,34 f-h
14	K-14	2,07 m	44	K-44	1,45 g-i
15	K-15	1,68 i-l	45	K-45	2,00 k-l
16	K-16	1,28 d-h	46	K-46	0,95 a-c
17	K-17	0,89 a-b	47	K-47	1,30 d-g
18	K-18	2,55 n	48	K-48	1,23 b-g
19	K-19	2,05 l-m	49	K-49	0,88 a
20	K-20	0,85 a	50	K-50	1,65 h-j
21	K-21	1,34 e-i	51	K-51	0,80 a
22	K-22	1,04 a-e	52	K-52	1,08 a-f
23	K-23	1,45 f-j	53	K-53	0,95 a-c
24	K-24	1,79 j-m	54	K-54	0,92 a-b
25	K-25	1,45 f-j	55	K-55	0,81 a
26	K-26	0,84 a	56	K-56	1,08 a-f
27	K-27	1,91 k-m	57	K-57	0,95 a-c
28	K-28	1,26 c-h	58	K-58	1,33 e-g
29	K-29	2,46 n	59	K-59	1,13 a-g
30	K-30	1,24 b-g	60	K-60	1,79 j-k

Tab. 1. 3. Stopień porażenia genotypów kukurydzy przez *F.temperatum*, wartości średnie dla materiałów hodowli Smolice z wyróżnionymi grupami jednorodnymi, dla form flint (S1 – S30) i dent (S31- S 60), na podstawie oceny przeprowadzonej w Smolicach i Radzikowie

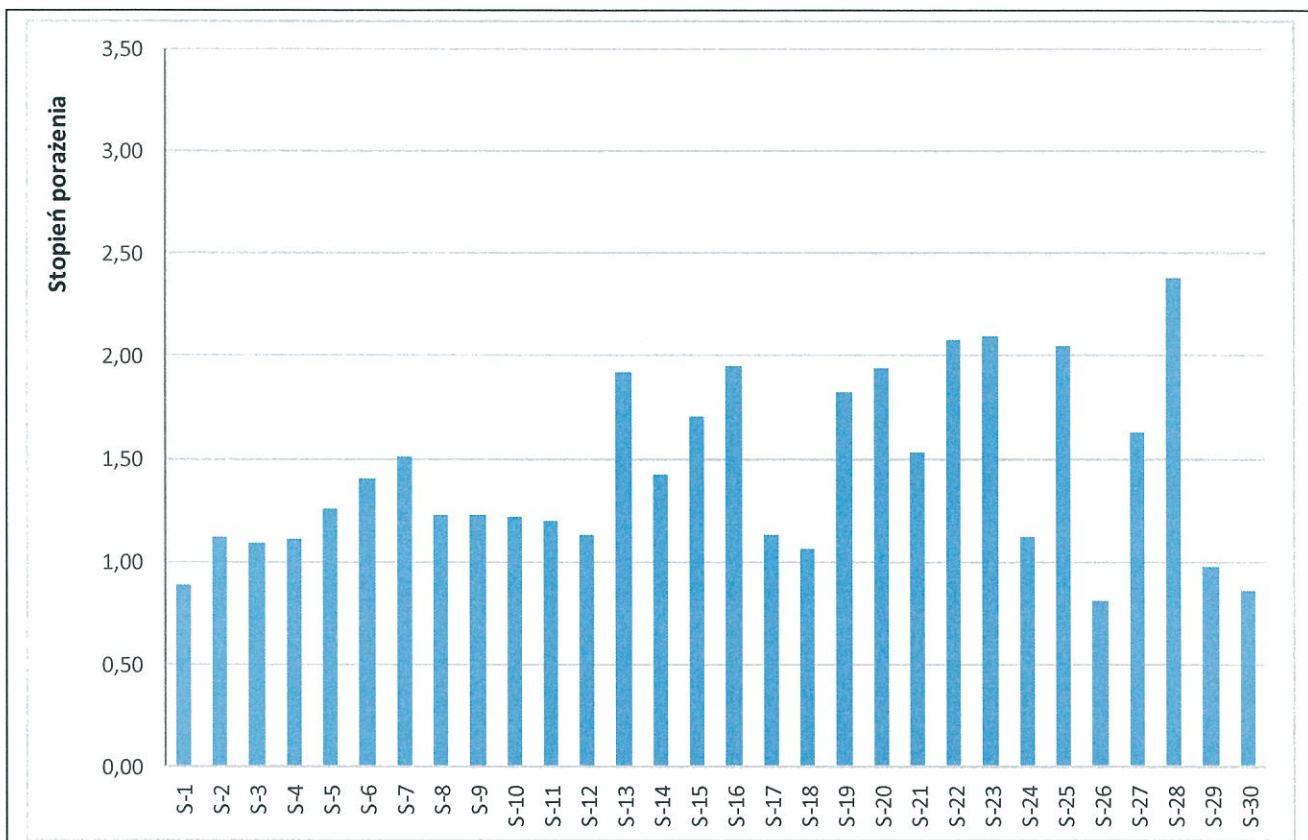
Lp	geotyp	stopień porażenia	Lp	geotyp	stopień porażenia
1	S-1	0,88 a-b	31	S-31	1,16 a-h
2	S-2	1,11 a-d	32	S-32	1,33 c-i
3	S-3	1,09 a-d	33	S-33	1,51 f-j
4	S-4	1,11 a-d	34	S-34	2,52 m
5	S-5	1,26 b-g	35	S-35	0,95 a-d
6	S-6	1,41 c-h	36	S-36	0,88 a-c
7	S-7	1,52 d-i	37	S-37	1,64 g-k
8	S-8	1,23 a-g	38	S-38	2,46 l-n
9	S-9	1,22 a-f	39	S-39	1,88 i-l
10	S-10	1,21 a-f	40	S-40	2,05 j-m
11	S-11	1,20 a-f	41	S-41	1,42 d-i
12	S-12	1,13 a-e	42	S-42	2,15 k-n
13	S-13	1,93 i-l	43	S-43	1,43 d-j
14	S-14	1,43 c-h	44	S-44	1,03 a-f
15	S-15	1,71 g-l	45	S-45	0,89 a-c
16	S-16	1,95 k-m	46	S-46	1,14 a-g
17	S-17	1,13 a-e	47	S-47	0,75 a
18	S-18	1,06 a-c	48	S-48	1,00 a-e
19	S-19	1,83 h-l	49	S-49	1,34 c-i
20	S-20	1,94 j-m	50	S-50	0,79 a
21	S-21	1,53 e-i	51	S-51	1,21 a-h
22	S-22	2,08 m- m	52	S-52	1,47 e-j
23	S-23	2,10 m- m	53	S-53	1,50 e-j
24	S-24	1,12 a-d	54	S-54	2,11 j-n
25	S-25	2,05 l-m	55	S-55	1,16 a-g
26	S-26	0,80 a	56	S-56	0,85 a-b
27	S-27	1,63 f-k	57	S-57	1,75 h-l
28	S-28	2,38 m	58	S-58	1,22 a-h
29	S-29	0,97 a-c	59	S-59	1,29 b-i
30	S-30	0,85 a-b	60	S-60	1,50 e-j



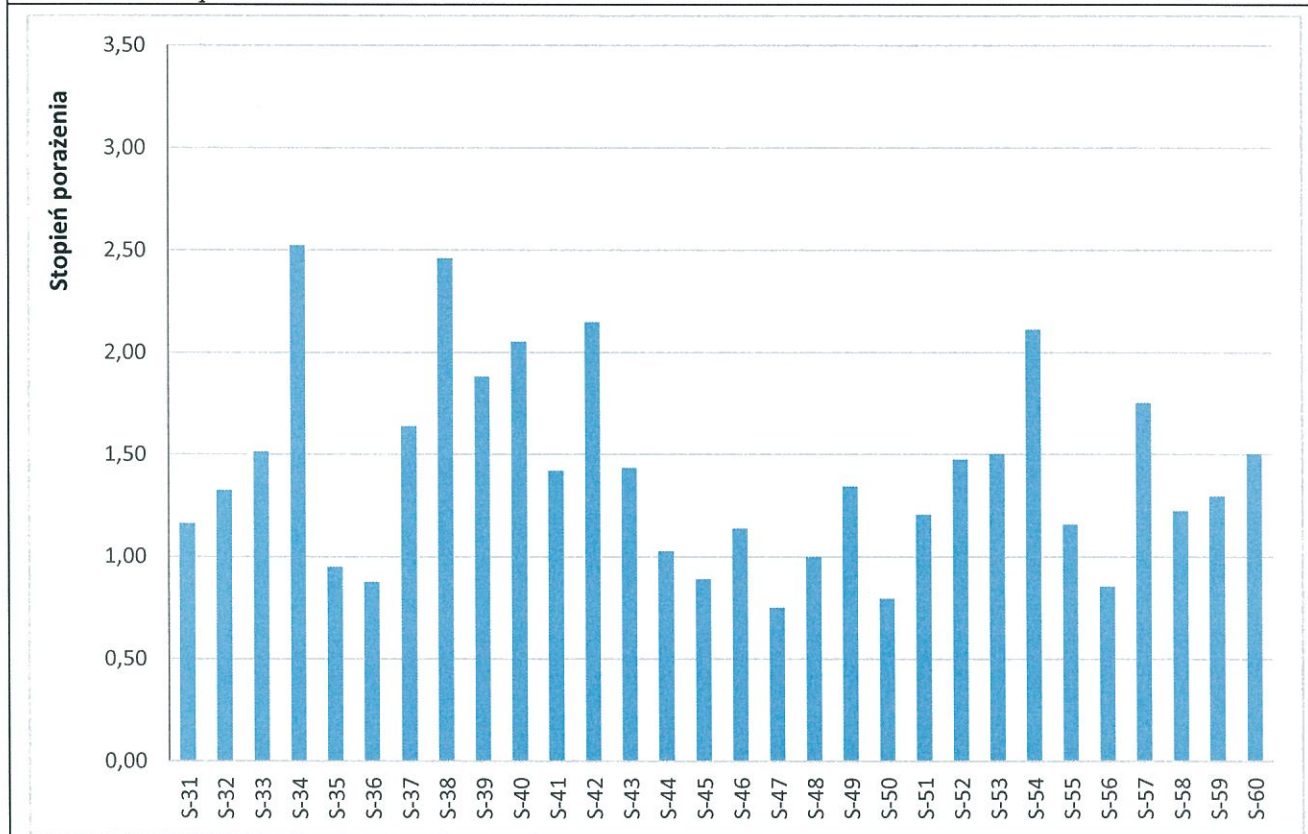
Ryc. 1.1. Średni stopień porażenia genotypów kukurydzy (formy flint) hodowli MHR Kobierzyce przez *Fusarium temperatum*



Ryc. 1. 2. Średni stopień porażenia genotypów kukurydzy (formy dent) hodowli MHR Kobierzyce przez *Fusarium temperatum*



Ryc. 1.3. Średni stopień porażenia genotypów kukurydzy (formy flint) hodowli HRS Smolice przez *Fusarium temperatum*



Ryc. 1.4. Średni stopień porażenia genotypów kukurydzy (formy dent) hodowli HRS Smolice przez *Fusarium temperatum*

Dyskusja

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. Porażeniu mogą ulegać praktycznie wszystkie części rośliny w różnych fazach rozwojowych (korzenie, siewki, łodygi kolby). Szczególnie dużo uwagi poświęcą 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. culmorum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. oxysporum*, *F. poae*, *F. proliferatum*, *F. subglutinans*, *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum*, *F. verticillioides*, *F. venenatum*. (Bottalico 1998, Hussein i in. 2002, Dorn i in. 2009, Scaufflaire i in. 2011). Gatunki te różnią się w istotnym stopniu patogennością, spektrum biosyntetyzowanych metabolitów, jak też objawami. Wymienione cechy a zwłaszcza zróżnicowanie występujących objawów, stały się powodem wyróżnienia dwóch jednostek chorobowych:

„Gibberella ear rot (GER)” której przyczyna są gatunki zaliczane do dawnej sekcji *Discolor*

„*Fusarium* ear rot (FER)” której przyczyną są gatunki zgrupowane w obrębie dawnej sekcji *Liseola*.

Informacje czy odporność na jeden z gatunków *Fusarium* warunkuje jednocześnie odporność na gatunki pokrewne uznawane jako przyczyna GER i/lub FER są sprzeczne. Doświadczenia Mesterchazego dotyczące fuzariozy kłosów pszenicy pokazują, że te same QTL determinują odporność na różne *Fusarium* spp. (Mestrhazy i in. 2007). Występowanie istotnej korelacji pomiędzy odpornością kukurydzy na *Fusarium graminearum* i *Fusarium verticillioides* stwierdził także Presello i in. (2004). Natomiast na niezależne podłoże odporności kukurydzy na poszczególne gatunki *Fusarium* spp. wskazywał Rheeder i in. (1990).

Wiedza na temat porażenia kukurydzy (odmian, linii hodowlanych czy też genotypów) przez *F. temperatum* jest fragmentaryczna.

Przedstawione wyniki wskazują na zróżnicowaną podatność materiałów hodowlanych na porażenie a zmienność ocenianej cechy (podatność) miała charakter ciągły. Taki rozkład cechy jest charakterystyczny dla interakcji (pomiędzy gospodarzem a patogenem) o charakterze rasowo nispecyficznym i jest dość typowy dla porażenia roślin przez *Fusarium* spp. Utrudnia on w dużym stopniu jednoznaczne wyłonienie genotypów podatnych, mniej podatnych, odpornych.

Jak wynika z przeprowadzonych analiz istotny okazał się efekt środowiskowy. Istotnie silniej porażone były materiały badane w Kobierzycach i Smolicach. Jest to zjawisko znane w doświadczeniach polowym, opisywane także w kontekście podatności zbóż na *Fusarium* spp. Mesterhazy i in. (2012), podkreśla konieczność zakładania tego typu doświadczeń co najmniej w dwóch lokalizacjach.

Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy stopniem porażenia form flint i dent. W sezonie 2016 wyniki takie uzyskano w doświadczeniach inokulacyjnych we wszystkich trzech lokalizacjach (Kobierzyce, Smolice i Radzików). Doniesienia literaturowe nie są w tym zakresie jednoznaczne. Löffler i in. (2010) donosił o większej podatności form flint niż dent, odmienne wyniki były prezentowane przez Wita i in. (2011), natomiast Hennigen i in. (2000) na podstawie przeprowadzonych badań nie stwierdził różnic istotnych w stopniu porażenia obydwu form (flint, dent) kukurydzy. Uwzględniając, że wśród polskich materiałów hodowlanych bardzo powszechne są formy pośrednie flint x dent, jednoznaczne wyjaśnienie wspomnianej zależności mogłoby być wartościowe. W tym celu za wskazane należy uznać przeprowadzenie precyzyjnego doświadczenia szklarniowego.

Wnioski

1.1. Badane genotypy kukurydzy pochodzące ze HRS Smolice i MHR Kobierzyce różnią się istotnie podatnością na porażenie przez *F. temperatum*

1.2. Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy stopniem porażenia form flint i dent

Literatura

- Bottalico A., 1998: *Fusarium* disease of cereals: species complex and related mycotoxin profiles in Europe. J. Plant Pathol. 80: 85–103.
- Dorn B., Forrer H.R., Schürch S., Vogelgsang S., 2009: *Fusarium* species complex on maize in Switzerland: occurrence, prevalence, impact and mycotoxins in commercial hybrids under natural infection. Eur. J. Plant Pathol. 125: 51–61.
- Hennigen M.R., Valente Soares L.M., Sanchez S., Di Benedetto N.M., Longhi A., Eyhe´rabide G., Torroba J., Zanelli M., 2000: Fumonisin in corn hybrids grown in Argentina for two consecutive seasons. In: Proceeding of the Xth International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phyto-Susceptibility of flint and dent maize ears... 43 toxins, 21–25 May 2000, Guarujá, Brazil. Eds. W.J. De Koe, R.A. Samson, H.P. van Egmond, J. Gilbert, M. Sabino. IUPAC, Guarujá: 331–339.
- Hussein H.M., Christensen M.J., Baxter M., 2002: Occurrence and distribution of *Fusarium* species in maize fields in New Zealand. Mycopathologia. 156: 25–30.
- Löffler M., Kessel B., Ouzunova M., Miedaner T., 2010: Population parameters for resistance to *Fusarium graminearum* and *Fusarium verticillioides* ear rot among large sets of early, mid-late and late maturing European maize (*Zea mays* L.) inbred lines. Theor. Appl. Genet. 120: 1053–1062.
- Mesterhazy, A., Buerstmayr H., Tóth B., Lehoczki-Krsjak Sz., Szabó-Hever Á., Lemmens M., 2007: An improved strategy for breeding FHB resistant wheat must include Type I resistance. In: R. Clear (ed.), Proceedings of the 5th Canadian Workshop on Fusarium Head Blight, 51–66. November 27–30, 2007, Delta Winnipeg
- Mesterhazy A., Lemmens M., Reid L.M. 2012: Breeding for resistance to ear rots caused by *Fusarium* spp. in maize – a review. Plant Breeding. 131: 1-19.
- Presello D. A., Reid L. M., Mather D. E. 2004: Resistance of Argentine maize germplasm to *Gibberella* and *Fusarium* ear rots. Maydica 49: 73-81.
- Rheeder J.P., Marasas W.F.O., Van Wyk P.S., Van Schalkwyk, D.J. 1990: Reaction of South African maize cultivars to ear inoculation with *Fusarium moniliforme*, *F.graminearum* and *Diplodia maydis*. Phytophylactica 22: 213-318.
- Scauflaire J., Mahieu O., Louveaux J., Foucart G., Renard F., Munaut F. 2011: Biodiversity of *Fusarium* species in ears and stalks of maize plants in Belgium. Eur. J. Plant Pathol. 131: 59–66.
- Wit M., Warzecha R., Mirzwa-Mróż E., Jabłońska E., Ochodzki P., Waśkiewicz A., Wakuliński W. 2011: Susceptibility of flint and dent maize ears to *Fusarium* species. Phytopathologia. 60: 35-45.

Mierniki dla tematu badawczego 1:

Lp.	miernik ²	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana
	Liczba genotypów objęta badaniami	120	120
	Liczba lokalizacji doswiadczeń infekcyjnych dla każdego genotypu	2	2

² Podać miernik – np. ilość testów, prób, badanych genotypów etc.

3.2 Temat badawczy 2: Analiza profilu metabolitów wtórnych (mykotoksyn) występujących w materiale roślinnym porażonym przez *Fusarium temperatum*.

Cel tematu

Celem badań jest przeprowadzenie ilościowej i jakościowej analizy metabolitów wtórnych wytwarzanych in vivo przez *F.temperatum*. Ponadto ziarniaki zostały poddane analizie zawartości amylopektyn/amylozy.

Cel został osiągnięty

Material i metody

Materiał roślinny zebrany w trakcie fenotypowania był przewożony do laboratorium a następnie analizowany w kierunku:

- dominujących metabolitów *F.temperatum*, które rozpoznano w badaniach in vitro tego patogena
- ergosterolu, którego poziom stanowi ilościowy marker plechy patogena w materiale roślinnym.
- amylozy/amylopektyn (obydwa związki tworzą skrobię, która jest podstawowym komponentem endospermu ziarniaków).

Analiza mykotoksyn

Po osiągnięciu dojrzałości zbiorczej kolby kukurydzy były transportowane do laboratorium a następnie dosuszane i młócone. Frakcję ziarniaków z wyraźnymi objawami porażenia rozdrabniano i poddawano analizie pod kątem zawartości ergosterolu oraz metabolitów (mykotoksyn) *F.temperatum*, które rozpoznano w badaniach z zakresu biosyntezy mykotoksyn w warunkach in vitro tego patogena. (Skrining metabolitów biosyntetyzowanych przez *F.temperatum* jest przedmiotem tematu 3). Badania Scauflaire i in. (2012) wskazują, że *F.temperatum* posiada zdolność biosyntezy beauwerycyny. Dane na temat możliwości biosyntezy innych mykotoksyn są niejednoznaczne, wskazują na jakościową zmienność w populacji gatunku. Procedury analizy mykotoksyn oraz ergosterolu będą zgodne ze stosowaną metodyką ich oznaczania w trakcie realizacji tematu badawczego 3, dotyczącego biosyntezy *F.temperatum* w warunkach in vitro.

Procedura analizy ergosterolu.

Ergosterol jest podstawowym związkiem sterolowym błon cytoplazmatycznych grzybów i jest standardowo traktowany jako marker (jakościowy i ilościowy) obecności plechy grzybów. Zawartość ergosterolu oceniano zgodnie z metodyką przedstawioną w pracy Younga (1995). Metoda ta przewiduje ekstrakcję ergosterolu w metanolowym roztworze wodorotlenku sodowego w warunkach promieniowania mikrofalowego. Zmydlony ergosterol zobojętnia się kwasem solnym a następnie ekstrahuje z roztworu pentanem. Uzyskane próbki odparowuje się do sucha i w takiej postaci pozostawia do momentu analizy. Analiza ergosterolu była przeprowadzona metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej stosując chromatograf Shimadzu. Rozdział był przeprowadzony na kolumnie RP C18, z detekcją UV przy 282nm.

Analiza zawartości amylopektyn/amylozy w skrobi przeprowadzano wykorzystując do tego celu „Megazyme assay kit”. W teście tym badaną próbkę skrobi zawieszono w sulfotlenku dwumetylu (DMSO). Z roztworu usuwa się następnie lipidy poprzez strącenie skrobi etanolem. Wytrąconą skrobię zawieszono następnie w buforze octanowym, z którego amylopektynę wytrąca się konkawaliną. Zawarta w supernatancie amyloza jest hydrolizowana do D-glukozy a następnie oznaczana spektrofotometrycznie (Wit 2012).

Wyniki

Analizę zawartości amylozy przeprowadzono w ziarniakach kukurydzy 60 genotypów hodowli MHR Kobierzyce i 60 genotypów hodowli HRS Smolice. Ogółem pod kątem zawartości amylozy przebadano 240 prób 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).

- Udział amylozy w strukturze skrobi ziarniaków materiałów hodowli MHR Kobierzyce, pochodzących z doświadczenia założonego w Kobierzycach przedstawia tabela 2.1 i tabela 2.2. Zakres zmienności cechy dla badanych genotypów tej hodowli typu flint wahał się od 21,39% (dla genotypu K-14) do 37,27% w przypadku genotypu o numerze kodowym K-1, natomiast w przypadku ziarniaków typu dent od 26,35% (K-44) do 37,49% (K-38). Średni udział amylozy w ziarniakach kukurydzy typu flint był wyższy (30,81%) niż w ziarniakach testowanych genotypów typu dent (29,69%), i przy $\alpha = 0.05$ różnice te były statystycznie istotne.
- W ziarniakach genotypów kukurydzy pochodzących z hodowli HRS Smolice, pochodzących z doświadczenia założonego w Smolicach, stwierdzony udział amylozy przedstawia tabela 2.3 i tabela 2.4. Istotnie większy udział amylozy występował w formach dent (30,23%) niż flint (32,38%). Zakres zmienności badanej cechy dla form kukurydzy typu flint wahał się od 21,33% do 35,19% a w przypadku form kukurydzy typu dent od 28,38% do 38,83%.
- Udział amylozy w strukturze skrobi ziarniaków materiałów hodowli MHR Kobierzyce, pochodzących z doświadczenia założonego w Radzikowie przedstawia tabela 2.5 i tabela 2.6. Zakres zmienności cechy dla badanych genotypów tej hodowli typu flint wahał się od 29,31% (dla genotypu K-9) do 41,17% w przypadku genotypu o numerze kodowym K-22, natomiast w przypadku ziarniaków typu dent od 24,38% (genotyp K-48) do 40,86% (genotyp K-46).
- Udział amylozy w strukturze skrobi ziarniaków materiałów hodowli HRS Smolice, pochodzących z doświadczenia założonego w Radzikowie przedstawia tabela 2.7 i tabela 2.8. Zakres zmienności cechy dla badanych genotypów tej hodowli typu flint wahał się od 27,90% (dla genotypu S-25) do 41,14% w przypadku genotypu o numerze kodowym S-2, natomiast w przypadku ziarniaków typu dent od 26,32% (genotyp S-40) do 33,88% (genotyp S - 59).

Tab. 2.1. Analiza zawartości amylozy w ziarniakach genotypów kukurydzy (typu flint), hodowli MHR Kobierzyce, z doświadczenia założonego w Kobierzycach

Lp	No	Miejsce	Typ		Amyloza	
1	K-1	Kobierzyce	Flint	37,97	± 0,72	r-o
2	K-2	Kobierzyce	Flint	27,53	± 0,42	c-e
3	K-3	Kobierzyce	Flint	32,36	± 1,66	m-r
4	K-4	Kobierzyce	Flint	28,46	± 0,46	e-h
5	K-5	Kobierzyce	Flint	31,46	± 1,90	k-r
6	K-6	Kobierzyce	Flint	37,83	± 2,47	r-r
7	K-7	Kobierzyce	Flint	33,20	± 0,42	n-r
8	K-8	Kobierzyce	Flint	29,83	± 0,45	h-l
9	K-9	Kobierzyce	Flint	31,65	± 0,47	l-r
10	K-10	Kobierzyce	Flint	29,28	± 0,91	g-j
11	K-11	Kobierzyce	Flint	29,58	± 0,50	h-k
12	K-12	Kobierzyce	Flint	24,84	± 0,84	a-b
13	K-13	Kobierzyce	Flint	30,4	± 1,13	i-m
14	K-14	Kobierzyce	Flint	21,39	± 0,20	a-0
15	K-15	Kobierzyce	Flint	26,60	± 0,29	b-c
16	K-16	Kobierzyce	Flint	26,22	± 0,59	b-c
17	K-17	Kobierzyce	Flint	27,93	± 0,24	d-g
18	K-18	Kobierzyce	Flint	27,83	± 1,37	c-f
19	K-19	Kobierzyce	Flint	28,38	± 0,65	d-g
20	K-20	Kobierzyce	Flint	30,93	± 0,88	i-o
21	K-21	Kobierzyce	Flint	34,04	± 0,45	o-r
22	K-22	Kobierzyce	Flint	30,13	± 0,41	i-m
23	K-23	Kobierzyce	Flint	31,38	± 0,93	j-p
24	K-24	Kobierzyce	Flint	28,80	± 0,49	f-i
25	K-25	Kobierzyce	Flint	30,55	± 0,36	i-n
26	K-26	Kobierzyce	Flint	35,08	± 1,71	p-r
27	K-27	Kobierzyce	Flint	35,64	± 0,82	r-r
28	K-28	Kobierzyce	Flint	48,37	± 2,09	o-0
29	K-29	Kobierzyce	Flint	27,23	± 1,08	b-d
30	K-30	Kobierzyce	Flint	28,87	± 3,66	g-i

Tab. 2.2. Analiza zawartości amylozy w ziarniakach genotypów kukurydzy (typu dent), hodowli MHR Kobierzycy, z doświadczenia założonego w Kobierzycach

Lp	No	Miejsce	Typ		Amyloza	
1	K-31	Kobierzycy	Dent	30,54	± 1,18	i-k
2	K-32	Kobierzycy	Dent	26,52	± 0,40	a-0
3	K-33	Kobierzycy	Dent	27,60	± 0,45	b-d
4	K-34	Kobierzycy	Dent	29,08	± 0,69	d-h
5	K-35	Kobierzycy	Dent	30,16	± 0,93	g-j
6	K-36	Kobierzycy	Dent	26,75	± 1,64	a-b
7	K-37	Kobierzycy	Dent	28,16	± 2,40	c-f
8	K-38	Kobierzycy	Dent	37,49	± 2,70	m
9	K-39	Kobierzycy	Dent	33,25	± 2,15	l-l
10	K-40	Kobierzycy	Dent	34,09	± 1,17	l-l
11	K-41	Kobierzycy	Dent	29,17	± 0,33	d-h
12	K-42	Kobierzycy	Dent	37,00	± 0,50	m
13	K-43	Kobierzycy	Dent	27,54	± 0,24	b-c
14	K-44	Kobierzycy	Dent	26,35	± 0,65	a
15	K-45	Kobierzycy	Dent	30,13	± 0,61	g-j
16	K-46	Kobierzycy	Dent	30,88	± 0,47	j-k
17	K-47	Kobierzycy	Dent	29,25	± 3,31	f-i
18	K-48	Kobierzycy	Dent	27,24	± 0,62	b-c
19	K-49	Kobierzycy	Dent	28,22	± 0,46	c-f
20	K-50	Kobierzycy	Dent	29,31	± 0,53	f-i
21	K-51	Kobierzycy	Dent	31,69	± 0,42	k-k
22	K-52	Kobierzycy	Dent	28,43	± 1,05	c-f
23	K-53	Kobierzycy	Dent	28,92	± 0,24	d-g
24	K-54	Kobierzycy	Dent	27,86	± 1,66	b-e
25	K-55	Kobierzycy	Dent	28,30	± 0,82	c-f
26	K-56	Kobierzycy	Dent	31,12	± 1,07	j-k
27	K-57	Kobierzycy	Dent	30,26	± 3,25	h-j
28	K-58	Kobierzycy	Dent	29,10	± 1,09	d-h
29	K-59	Kobierzycy	Dent	29,29	± 0,45	f-i
30	K-60	Kobierzycy	Dent	29,33	± 0,55	f-i

Tab. 2.3. Analiza zawartości amylozy w ziarniakach genotypów kukurydzy (typu flint), hodowli HRS Smolice, z doświadczenia założonego w Smolicach

Lp	No	Miejsce	Typ	Amyloza		
1	S-1	Smolice	Flint	34.67	± 0.83	o
2	S-2	Smolice	Flint	31.48	± 0.98	l-m
3	S-3	Smolice	Flint	31.79	± 0.97	l-n
4	S-4	Smolice	Flint	30.91	± 0.68	j-l
5	S-5	Smolice	Flint	32.54	± 0.48	m-n
6	S-6	Smolice	Flint	33.44	± 0.71	n-
7	S-7	Smolice	Flint	35.02	± 0.57	o
8	S-8	Smolice	Flint	32.51	± 0.72	m-n
9	S-9	Smolice	Flint	30.07	± 0.59	h-j
10	S-10	Smolice	Flint	35.20	± 0.39	o
11	S-11	Smolice	Flint	31.07	± 0.39	k-m
12	S-12	Smolice	Flint	32.48	± 2.28	m-n
13	S-13	Smolice	Flint	29.72	± 0.42	g-i
14	S-14	Smolice	Flint	28.23	± 0.31	d-e
15	S-15	Smolice	Flint	29.75	± 1.79	g-i
16	S-16	Smolice	Flint	29.21	± 0.56	f-h
17	S-17	Smolice	Flint	29.80	± 0.61	g-i
18	S-18	Smolice	Flint	27.02	± 2.10	c-
19	S-19	Smolice	Flint	21.34	± 0.57	a-
20	S-20	Smolice	Flint	25.73	± 1.34	b-
21	S-21	Smolice	Flint	27.64	± 0.75	c-d
22	S-22	Smolice	Flint	29.89	± 1.55	g-i
23	S-23	Smolice	Flint	28.39	± 0.26	d-f
24	S-24	Smolice	Flint	29.36	± 0.28	g-h
25	S-25	Smolice	Flint	29.72	± 0.33	g-i
26	S-26	Smolice	Flint	30.34	± 0.60	i-k
27	S-27	Smolice	Flint	31.32	± 0.35	l-m
28	S-28	Smolice	Flint	29.03	± 0.46	e-g
29	S-29	Smolice	Flint	27.81	± 0.22	c-d
30	S-30	Smolice	Flint	31.92	± 0.63	m-n

Tab. 2.4. Analiza zawartości amylozy w ziarniakach genotypów kukurydzy (typu dent), hodowli HRS Smolice, z doświadczenia założonego w Smolicach

Lp	No	Miejsce	Typ	Amyloza		
1	S-31	Smolice	Dent	32.13	± 0.74	f-i
2	S-32	Smolice	Dent	31.75	± 0.44	d-h
3	S-33	Smolice	Dent	29.20	± 0.37	a-b
4	S-34	Smolice	Dent	33.96	± 0.51	j-l
5	S-35	Smolice	Dent	30.88	± 0.25	c-f
6	S-36	Smolice	Dent	32.99	± 1.71	h-j
7	S-37	Smolice	Dent	30.22	± 2.56	b-c
8	S-38	Smolice	Dent	33.46	± 0.91	i-k
9	S-39	Smolice	Dent	30.81	± 1.17	c-f
10	S-40	Smolice	Dent	30.79	± 0.58	c-f
11	S-41	Smolice	Dent	35.07	± 0.78	m-n
12	S-42	Smolice	Dent	31.10	± 3.83	c-g
13	S-43	Smolice	Dent	30.76	± 1.32	c-e
14	S-44	Smolice	Dent	32.67	± 0.85	h-j
15	S-45	Smolice	Dent	33.35	± 1.10	i-k
16	S-46	Smolice	Dent	33.04	± 2.12	h-j
17	S-47	Smolice	Dent	34.55	± 1.34	l-m
18	S-48	Smolice	Dent	34.32	± 1.53	k-m
19	S-49	Smolice	Dent	31.01	± 0.85	c-g
20	S-50	Smolice	Dent	32.36	± 0.45	g-i
21	S-51	Smolice	Dent	30.47	± 1.09	b-d
22	S-52	Smolice	Dent	38.83	± 1.25	o-
23	S-53	Smolice	Dent	30.87	± 0.91	c-f
24	S-54	Smolice	Dent	32.96	± 2.10	h-j
25	S-55	Smolice	Dent	34.46	± 1.12	l-m
26	S-56	Smolice	Dent	31.84	± 1.09	e-h
27	S-57	Smolice	Dent	33.82	± 1.14	j-l
28	S-58	Smolice	Dent	28.39	± 0.84	a-
29	S-59	Smolice	Dent	35.47	± 0.98	n-
30	S-60	Smolice	Dent	30.54	± 0.85	b-e

Tab. 2.5. Analiza zawartości amylozy w ziarniakach genotypów kukurydzy (typu flint), hodowli MHR Kobierzyce, z doświadczenia założonego w Radzikowie

Lp	No	Miejsce	Typ	Amyloza		
1	K-1	Radzików	Flint	31,00	± 0,63	d-f
2	K-2	Radzików	Flint	31,95	± 0,41	f-g
3	K-3	Radzików	Flint	31,04	± 1,19	d-f
4	K-4	Radzików	Flint	36,22	± 0,62	n-n
5	K-5	Radzików	Flint	33,26	± 1,56	h-j
6	K-6	Radzików	Flint	30,57	± 0,55	b-e
7	K-7	Radzików	Flint	30,55	± 0,32	b-e
8	K-8	Radzików	Flint	30,07	± 0,27	a-e
9	K-9	Radzików	Flint	29,31	± 0,42	a-a
10	K-10	Radzików	Flint	37,34	± 0,17	o-o
11	K-11	Radzików	Flint	29,48	± 0,58	a-a
12	K-12	Radzików	Flint	35,01	± 0,48	l-m
13	K-13	Radzików	Flint	32,31	± 1,57	g-h
14	K-14	Radzików	Flint	38,73	± 1,19	p-p
15	K-15	Radzików	Flint	34,35	± 1,34	k-l
16	K-16	Radzików	Flint	35,46	± 0,96	m-n
17	K-17	Radzików	Flint	34,88	± 2,44	k-m
18	K-18	Radzików	Flint	32,89	± 1,52	g-i
19	K-19	Radzików	Flint	34,58	± 1,31	k-m
20	K-20	Radzików	Flint	29,63	± 0,34	a-b
21	K-21	Radzików	Flint	34,09	± 0,56	j-l
22	K-22	Radzików	Flint	41,17	± 0,51	r-r
23	K-23	Radzików	Flint	30,81	± 1,50	c-e
24	K-24	Radzików	Flint	29,99	± 0,25	a-d
25	K-25	Radzików	Flint	29,89	± 0,25	a-c
26	K-26	Radzików	Flint	31,12	± 1,20	e-f
27	K-27	Radzików	Flint	33,04	± 0,33	h-j
28	K-28	Radzików	Flint	32,56	± 2,29	g-h
29	K-29	Radzików	Flint	33,83	± 1,33	i-k
30	K-30	Radzików	Flint	32,31	± 0,27	g-h

Tab. 2.6. Analiza zawartości amylozy w ziarniakach genotypów kukurydzy (typu dent), hodowli MHR Kobierzyce, z doświadczenia założonego w Radzikowie

Lp	No	Miejsce	Typ	Amyloza		
1	K-31	Radzików	Dent	29,99	± 0,27	c-c
2	K-32	Radzików	Dent	31,20	± 1,33	c-e
3	K-33	Radzików	Dent	29,83	± 0,31	c-c
4	K-34	Radzików	Dent	31,05	± 1,59	c-d
5	K-35	Radzików	Dent	30,21	± 1,75	c-c
6	K-36	Radzików	Dent	33,51	± 3,56	f-h
7	K-37	Radzików	Dent	36,01	± 4,47	i-j
8	K-38	Radzików	Dent	34,53	± 0,98	g-j
9	K-39	Radzików	Dent	36,87	± 0,45	j-j
10	K-40	Radzików	Dent	32,77	± 0,58	e-g
11	K-41	Radzików	Dent	33,80	± 2,63	f-i
12	K-42	Radzików	Dent	35,21	± 0,69	g-i
13	K-43	Radzików	Dent	38,56	± 2,04	k-k
14	K-44	Radzików	Dent	37,43	± 0,64	j-k
15	K-45	Radzików	Dent	31,18	± 1,14	c-e
16	K-46	Radzików	Dent	40,86	± 1,37	l-l
17	K-47	Radzików	Dent	33,42	± 1,42	f-h
18	K-48	Radzików	Dent	24,38	± 0,37	a-a
19	K-49	Radzików	Dent	36,99	± 0,39	j-k
20	K-50	Radzików	Dent	33,40	± 0,39	f-h
21	K-51	Radzików	Dent	34,21	± 0,83	g-i
22	K-52	Radzików	Dent	28,04	± 2,02	b-
23	K-53	Radzików	Dent	33,24	± 0,89	f-h
24	K-54	Radzików	Dent	33,73	± 0,29	f-i
25	K-55	Radzików	Dent	33,53	± 1,30	f-h
26	K-56	Radzików	Dent	34,32	± 0,84	g-i
27	K-57	Radzików	Dent	33,63	± 2,62	f-i
28	K-58	Radzików	Dent	37,27	± 2,64	j-k
29	K-59	Radzików	Dent	30,85	± 1,74	c-d
30	K-60	Radzików	Dent	32,19	± 0,24	d-f

Tab. 2.7. Analiza zawartości amylozy w ziarniakach genotypów kukurydzy (typu flint), hodowli HRS Smolice, z doświadczenia założonego w Radzikowie

Lp	No	Miejsce	Typ	Amyloza		
1	S-1	Radzików	Flint	35.56	± 1.44	o-p
2	S-2	Radzików	Flint	41.15	± 0.44	-r
3	S-3	Radzików	Flint	34.48	± 0.92	l-m
4	S-4	Radzików	Flint	35.14	± 0.74	n-o
5	S-5	Radzików	Flint	34.04	± 1.40	j-m
6	S-6	Radzików	Flint	32.82	± 0.66	h-k
7	S-7	Radzików	Flint	33.39	± 2.60	i-l
8	S-8	Radzików	Flint	32.62	± 1.72	g-j
9	S-9	Radzików	Flint	32.80	± 0.49	h-k
10	S-10	Radzików	Flint	37.02	± 0.90	-p
11	S-11	Radzików	Flint	33.52	± 1.65	j-m
12	S-12	Radzików	Flint	28.84	± 2.01	a-b
13	S-13	Radzików	Flint	30.74	± 0.70	c-f
14	S-14	Radzików	Flint	35.42	± 1.15	o-p
15	S-15	Radzików	Flint	29.66	± 0.25	b-d
16	S-16	Radzików	Flint	31.02	± 5.61	c-f
17	S-17	Radzików	Flint	30.07	± 0.87	b-e
18	S-18	Radzików	Flint	31.78	± 1.46	f-h
19	S-19	Radzików	Flint	29.61	± 3.00	b-c
20	S-20	Radzików	Flint	34.09	± 0.46	k-m
21	S-21	Radzików	Flint	32.59	± 0.57	g-j
22	S-22	Radzików	Flint	33.34	± 1.03	i-l
23	S-23	Radzików	Flint	33.54	± 1.09	j-m
24	S-24	Radzików	Flint	32.44	± 2.46	g-i
25	S-25	Radzików	Flint	27.90	± 0.25	a-
26	S-26	Radzików	Flint	30.78	± 0.94	c-f
27	S-27	Radzików	Flint	29.90	± 0.55	b-d
28	S-28	Radzików	Flint	34.91	± 0.71	m-n
29	S-29	Radzików	Flint	31.26	± 1.79	d-g
30	S-30	Radzików	Flint	31.55	± 0.37	e-g

Tabela 2.8. Analiza zawartości amylozy w ziarniakach genotypów kukurydzy (typu dent), hodowli HRS Smolice, z doświadczenia założonego w Radzikowie

Lp	No	Miejsce	Typ	Amyloza		
1	S-31	Radzików	Dent	30.58	± 0.48	h-k
2	S-32	Radzików	Dent	31.01	± 2.56	i-n
3	S-33	Radzików	Dent	29.99	± 1.18	f-i
4	S-34	Radzików	Dent	31.13	± 1.88	i-o
5	S-35	Radzików	Dent	30.83	± 0.58	i-m
6	S-36	Radzików	Dent	27.95	± 0.88	b-c
7	S-37	Radzików	Dent	31.96	± 0.58	m-r
8	S-38	Radzików	Dent	30.90	± 0.21	i-m
9	S-39	Radzików	Dent	32.83	± 2.67	s-t
10	S-40	Radzików	Dent	26.33	± 1.53	a-
11	S-41	Radzików	Dent	31.79	± 1.44	l-r
12	S-42	Radzików	Dent	30.04	± 1.21	g-i
13	S-43	Radzików	Dent	32.59	± 0.41	r-r
14	S-44	Radzików	Dent	30.27	± 0.48	g-j
15	S-45	Radzików	Dent	28.74	± 0.27	c-e
16	S-46	Radzików	Dent	27.45	± 0.97	a-b
17	S-47	Radzików	Dent	32.39	± 0.51	p-r
18	S-48	Radzików	Dent	30.76	± 2.74	h-l
19	S-49	Radzików	Dent	29.63	± 0.24	e-h
20	S-50	Radzików	Dent	27.97	± 0.88	b-c
21	S-51	Radzików	Dent	32.27	± 1.76	o-r
22	S-52	Radzików	Dent	32.52	± 0.67	r-r
23	S-53	Radzików	Dent	28.42	± 0.48	b-d
24	S-54	Radzików	Dent	28.86	± 0.39	c-f
25	S-55	Radzików	Dent	31.29	± 0.26	j-p
26	S-56	Radzików	Dent	31.55	± 0.46	k-r
27	S-57	Radzików	Dent	29.13	± 0.34	d-g
28	S-58	Radzików	Dent	32.06	± 0.19	n-r
29	S-59	Radzików	Dent	33.89	± 0.68	t-
30	S-60	Radzików	Dent	29.13	± 0.42	d-g

Analizę zawartości ergosterolu oraz beauwerycyny metabolitów *F.temperatum* przeprowadzono w ziarniakach kukurydzy 60 genotypów hodowli „A” i 60 genotypów hodowli „B” 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). Łącznie analizami pod kątem metabolitów *F.temperatum* objęto 240 prób ziarniaków.

Zawartość badanych metabolitów dla materiałów pochodzących z obydwu hodowli przedstawiają odpowiednio Tab 2.9 i Tab. 2.10.

W materiałach hodowli Smolice średnia zawartość BEA:

- w próbach kukurydzy typu dent pochodzących z doświadczenia zrealizowanego w: Smolicach wynosiła $3,59 \pm 2,03$ ppm, i wahała się od 1,23 do 10,45 ppm
Radzikowie wynosiła $2,25 \pm 2,13$ ppm i wahała się od 0,24 do 9,15 ppm
- w próbach kukurydzy typu flint pochodzących z doświadczenia zrealizowanego w: Smolicach wynosiła $3,25 \pm 2,45$ ppm, i wahała się od 0,75 do 9,52 ppm
Radzikowie wynosiła $2,62 \pm 1,53$ ppm i wahała się od 0,84 do 6,96 ppm

W materiałach hodowli Kobierzycy średnia zawartość BEA:

- w próbach kukurydzy typu dent pochodzących z doświadczenia zrealizowanego w: Kobierzycach wynosiła $5,54 \pm 1,44$ ppm, i wahała się od 2,21 do 21,90 ppm
Radzikowie wynosiła $3,00 \pm 5,12$ ppm i wahała się od 0,36 do 10,59 ppm
- w próbach kukurydzy typu flint pochodzących z doświadczenia zrealizowanego w: Kobierzycach wynosiła $5,83 \pm 3,38$ ppm, i wahała się od 1,65 do 16,6 ppm
Radzikowie wynosiła $3,43 \pm 2,49$ ppm i wahała się od 0,68 do 13,24 ppm

Tab. 2.9. Zawartość ergosterolu oraz BEA w ziarniakach uzyskanych z kolb kukurydzy (Hodowla Smolice) inokulowanych *F.temperatum* z doświadczenia przeprowadzonego w Smolicach i Radzikowie

L.p.	Hodowla Smolice Genotyp	Doświadczenie Smolice		Doświadczenie Radzików	
		ERG [ppm]	BEA [ppm]	ERG [ppm]	BEA [ppm]
1	S 1	5,41	1,07	8,62	3,13
2	S 2	14,60	3,40	7,05	2,16
3	S 3	7,98	1,37	9,34	0,99
4	S 4	11,15	2,76	8,54	1,66
5	S 5	24,29	5,21	14,30	2,15
6	S 6	7,05	1,49	18,16	3,25
7	S 7	14,51	1,65	12,31	3,60
8	S 8	7,34	1,18	12,57	1,69
9	S 9	11,06	2,19	8,61	1,41
10	S 10	3,11	1,12	29,23	5,79
11	S 11	10,43	2,13	13,27	2,14
12	S 12	15,70	2,92	16,25	1,26
13	S 13	24,82	7,49	21,47	3,99
14	S 14	45,89	9,18	13,65	2,21
15	S 15	16,75	3,48	10,23	1,60
16	S 16	11,29	2,33	16,59	3,87
17	S 17	8,45	1,28	17,60	2,98
18	S 18	21,41	3,32	3,22	0,87
19	S 19	17,60	4,29	14,35	4,27
20	S 20	5,47	1,99	12,55	3,24
21	S 21	12,90	1,42	26,16	4,17
22	S 22	24,26	6,10	12,51	2,53
23	S 23	29,55	5,36	42,17	6,96
24	S 24	10,27	2,56	10,24	2,16
25	S 25	34,47	9,52	9,65	1,55
26	S 26	4,34	0,75	7,35	0,85
27	S 27	14,87	2,97	11,65	0,90
28	S 28	51,00	6,98	13,68	4,80
29	S 29	6,10	1,49	7,62	1,13
30	S 30	5,38	0,76	7,21	1,36

Tab. 2.9 cd. Zawartość ergosterolu oraz BEA w ziarniakach uzyskanych z kolb kukurydzy (Hodowla Smolice) inokulowanych *F.temperatum* z doświadczenia przeprowadzonego w Smolicach i Radzikowie

L.p.	Hodowla Smolice Genotyp	Doświadczenie Smolice		Doświadczenie Radzików	
		ERG [ppm]	BEA [ppm]	ERG [ppm]	BEA [ppm]
31	S 31	11,69	2,39	4,67	1,70
32	S 32	25,17	6,42	6,47	1,98
33	S 33	16,37	4,00	6,20	2,17
34	S 34	20,15	5,21	24,63	6,20
35	S 35	3,12	3,12	4,58	0,36
36	S 36	7,38	1,69	8,37	1,27
37	S 37	10,26	5,13	8,32	1,21
38	S 38	15,47	4,50	24,31	7,59
39	S 39	66,60	7,26	11,37	1,60
40	S 40	56,21	10,46	15,26	2,18
41	S 41	13,59	4,26	13,26	4,12
42	S 42	18,60	1,49	51,27	9,16
43	S 43	8,06	1,54	15,21	2,97
44	S 44	5,11	2,37	3,26	1,03
45	S 45	10,30	1,30	7,52	0,52
46	S 46	16,25	2,31	10,27	0,89
47	S 47	7,46	1,59	9,65	0,87
48	S 48	19,55	3,27	3,26	0,47
49	S 49	31,25	3,98	10,23	1,95
50	S 50	12,52	2,60	9,26	0,95
51	S 51	16,57	4,39	4,66	0,70
52	S 52	13,15	3,05	6,52	1,12
53	S 53	19,75	6,34	6,54	2,09
54	S 54	15,50	3,58	21,84	4,13
55	S 55	20,14	2,19	6,35	0,95
56	S 56	13,55	1,24	3,25	0,24
57	S 57	13,47	3,55	23,54	3,26
58	S 58	13,46	2,58	10,52	1,26
59	S 59	16,78	3,28	4,26	1,14
60	S 60	12,58	2,75	16,22	3,19

Tab. 2.10. Zawartość ergosterolu oraz BEA w ziarniakach uzyskanych z kolb kukurydzy (Hodowla Kobierzyce) inokulowanych *F.temperatum* z doświadczenia przeprowadzonego w Kobierzycach i Radzikowie

L.p.	Genotyp	Doświadczenie Kobierzyce		Doświadczenie Radzików	
		ERG [ppm]	BEA [ppm]	ERG [ppm]	BEA [ppm]
1	K 1	29,87	2,10	9,63	3,11
2	K 2	51,25	7,68	15,52	6,25
3	K 3	24,24	2,95	8,60	2,36
4	K 4	20,56	3,12	6,41	1,46
5	K 5	60,26	6,30	19,61	3,27
6	K 6	30,28	7,98	12,67	2,59
7	K 7	11,72	12,21	14,65	2,37
8	K 8	15,37	3,26	22,95	3,54
9	K 9	28,57	4,26	18,32	4,22
10	K 10	7,91	4,26	29,55	6,64
11	K 11	8,26	4,64	3,17	0,87
12	K 12	7,70	5,41	30,31	3,57
13	K 13	17,32	6,25	16,52	4,60
14	K 14	18,56	10,25	7,03	2,60
15	K 15	10,69	6,45	19,65	3,26
16	K 16	11,12	2,60	16,54	3,25
17	K 17	9,27	4,80	2,34	0,69
18	K 18	36,53	7,82	12,61	6,46
19	K 19	61,25	16,60	8,65	1,70
20	K 20	4,31	2,15	3,29	1,07
21	K 21	31,52	3,59	23,61	1,37
22	K 22	12,82	3,25	18,08	3,21
23	K 23	42,90	4,58	16,15	2,24
24	K 24	45,30	6,54	12,61	2,17
25	K 25	17,54	5,78	18,65	3,98
26	K 26	13,64	1,65	4,70	0,95
27	K 27	45,36	10,56	10,32	2,17
28	K 28	5,48	5,13	10,67	3,24
29	K 29	8,93	9,59	45,22	13,24
30	K 30	26,37	3,29	26,31	6,54

Tab. 2.10 cd. Zawartość ergosterolu oraz BEA w ziarniakach uzyskanych z kolb kukurydzy (Hodowla Koberzyce) inokulowanych *F.temperatum* z doświadczenia przeprowadzonego w Koberzycach i Radzikowie

L.p.	Hodowla Koberzyce Genotyp	Doświadczenie Koberzyce		Doświadczenie Radzików	
		ERG [ppm]	BEA [ppm]	ERG [ppm]	BEA [ppm]
31	K 31	14,60	4,27	8,65	2,13
32	K 32	58,80	14,21	16,32	1,96
33	K 33	7,26	1,87	7,32	1,54
34	K 34	24,76	5,87	13,26	1,55
35	K 35	25,76	4,21	4,57	2,14
36	K 36	12,48	2,35	25,62	3,27
37	K 37	74,76	21,70	36,22	8,54
38	K 38	28,25	11,30	16,32	4,60
39	K 39	8,57	1,69	5,64	1,97
40	K 40	90,41	21,90	21,31	4,17
41	K 41	11,27	2,55	10,27	1,56
42	K 42	14,62	6,50	41,21	7,22
43	K 43	6,24	2,69	13,61	3,24
44	K 44	18,70	2,60	12,36	1,99
45	K 45	15,51	11,28	8,90	2,16
46	K 46	6,35	1,23	13,61	2,16
47	K 47	8,27	2,17	13,62	2,57
48	K 48	13,59	4,26	10,65	5,12
49	K 49	9,84	1,55	7,27	0,92
50	K 50	15,30	5,25	16,32	3,21
51	K 51	23,54	3,57	7,69	1,42
52	K 52	27,37	4,57	5,16	0,36
53	K 53	14,36	4,26	4,61	1,13
54	K 54	3,49	1,33	22,36	3,12
55	K 55	23,54	3,26	8,52	1,56
56	K 56	21,20	6,30	8,52	1,66
57	K 57	6,30	2,70	8,22	2,87
58	K 58	33,26	7,57	8,87	2,59
59	K 59	4,25	1,21	23,15	2,87
60	K 60	5,35	2,16	21,62	10,60

Dyskusja

Beauwerycyna została po raz pierwszy wyizolowana w 1963 roku z patogenicznego dla owadów gatunku *Beauveria bassiana* i od nazwy rodzajowej grzyba utworzono nazwę metabolitu wtórnego (Hamill i in. 1969 wg Desjardins 2006). Następnie metabolit ten stwierdzono w plesze *Paecilomyces fumoso-roseus* i *Polyporus sulphureus* (Bernardini i in. 1975; Badan i in. 1978) oraz w izolatach licznych *Fusarium* spp w tym *Fusarium subglutinans*, *F. bulbicola*, *F. denticulatum*, *F. lactis*, *F. phyllophilum*, *F. pseudocircinatum* oraz *F. succisae* (Gupta i in. 1991 Santini i in. 2012). Beauwerycyna jest metabolitem powszechnie stwierdzanym w ziarniakach zbóż. Jego występowanie stwierdzono min w próbach pszenicy, jęczmienia, owsa, żyta oraz kukurydzy pochodzących z Finlandii (Jestoi i in. 2004) Norwegii (Uhlig i in. 2006), Niemiec (Goertz i in. 2010), Szwecji (Fredlund i in. 2013), Italii (Juan i in. 2013). Należy podkreślić, że najwyższy poziom zanieczyszczenia beauwerycyną był obserwowany w przypadku kukurydzy 6402 µg/kg (Goertz i in. 2010). Po raz pierwszy, w 1993 roku naturalne występowanie bowerycyny stwierdzono w Polsce, w kolbach kukurydzy porażonych przez *F. subglutinans* (Logrieco i in. 1993). Metabolit stwierdzono w 93% prób przy średniej zawartości BEA 18 µg/g.

Uwzględniając możliwość występowania BEA w kukurydzy, cytotoksyczne/genotoksyczne właściwości tego związku oraz możliwość biosntezy BEA przez *F.temperatum* w warunkach in vitro, za celowe uznano analizę występowania BEA w kolbach kukurydzy inokulowanych wspomnianym gatunkiem. Stwierdzone ilości BEA należy uznać za znaczące, lecz daleko mniejsze niż te stwierdzone przez Goertz i in. (2010), w kukurydzy porażonej przez *F.subglutinans* i pochodzącej z Niemiec 6402 µg/kg.

Endosperm ziarniaków może stanowić do 85% masy ziarniaka a jego podstawowym komponentem pozostaje skrobia. Tworzą ją dwa podstawowe komponenty amylopektyna i amyloza. Amylopektyna posiada strukturę krystaliczną i jest dominującym składnikiem stanowiąc przeciętnie 70-80% skrobi. Pozostałą część 20-30% stanowi amyloza (Li i in. 2008), posiada ona budowę amorficzną i pomimo, że jej udział w strukturze bielma jest znacznie mniejszy w istotnym stopniu decyduje o właściwościach fizycznych ziarniaków w tym twardości (Dombrink-Kurtzman i Knutson 1997). Blandino i Reyneri (2007) stwierdzili m.in. występowanie istotnej korelacji pomiędzy udziałem amylozy a udziałem tzw twardego endospermu (0,50) i zawartości białka (0,68). Cechy te mogą wpływać na stopień ich porażenia przez patogeny.

W przypadku materiałów hodowlanych, które były przedmiotem analizy w roku 2016, stwierdzono większym udziale amylozy w endospermie ziarniaków typu flint w materiałach hodowlanych pochodzących ze Smolic oraz Kobierzyc, przy czym różnice te nie były istotne .

Literatura

- Badan S.D., Damon D.R., Preet S. 1978: Isolation of cyclodepsipeptides from plant pathogenic fungi. *Australian Journal of Chemistry*. 31: 1397–1399
- Bernardini M., Carilli A., Pacioni G., Santurbano B. 1975: Isolation of beauvericin from *Paecilomyces fumosoroseus*. *Phytochemistry*, 14: 1865.
- Blandino M., Reyneri A. 2007: Comparison between normal and waxy maize hybrids for fusarium-toxin contamination in NW Italy. *Maydica* 52 (2): 127-134.
- Dombrink-Kurtzman M.A., Knutson C.A. 1997. A study of maize endosperm hardness in relation to amylose content and susceptibility to damage. *Cereal Chem.* 74(6): 776-780
- Fredlund E., Gidlund A., Sulyok M., Borjesson T., Krska R., Olsen M., Lindblad M. 2013: Deoxynivalenol and other selected Fusarium toxins in Swedish oats—occurrence and correlation to specific Fusarium species. *International Journal of Food Microbiology*. 167: 276–283
- Goertz A.S., Zuehlke S., Spitelner M., Steiner U., Dehne H.W., Waalwijk C., de Vries I., Oerke E.C. 2010: Fusarium species and mycotoxin profiles on commercial maize hybrids in Germany. *European Journal of Plant Pathology*. 128: 101–111
- Gupta S., Krasnoff S.B., Underwood N.L., Renwick J.A., Roberts D.W. 1991: Isolation of beauvericin as an insect toxin from *Fusarium semitectum* and *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. *Mycopathologia*. 115: 185–189.
- Hamill R.L., Higgins C.E., Boaz H.E., Gorman M. 1969: The structure of beauvericin, a new depsipeptide antibiotic toxic to *Artemia salina*. *Tetrahedron Letters*. 45: 4255–4258
- Jestoi M., Rokka M., Yli-Marrila T., Parikka P., Rizzo A., Peltonen K. 2004: Presence and concentrations of the Fusarium-related mycotoxins beauvericin, enniatins and moniliformin in Finnish grain samples. *Food Additives and Contaminants*. 21: 794–802.
- Juan C., Mañes J., Raiola A., Ritieni A. 2013: Evaluation of beauvericin and enniatins in Italian cereal products and multicereal food by liquid chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry. *Food Chemistry*. 140: 755–762.
- Li L., Jiang H., Campbell M., Blanco M., Jane J. 2008: Characterization of maize amylose-extender (ae) mutant starches. Part I: Relationship between resistant starch contents and molecular structures. *Carbohydrate Polymers*. 74(3): 396-404.
- Logrieco A., Moretti A., Ritieni A., Chelkowski J., Altomare C., Bottalico A., Randazzo G. 1993: Natural occurrence of beauvericin in preharvest *Fusarium subglutinans* infected corn ears in Poland. *J. Agric. Food Chem.* 41(11): 2149-2152.
- Santini A., Meca G., Uhlig S., Ritieni A. 2012: Fusaproliferin, beauvericin and enniatins: occurrence in food—review. *World Mycotoxin Journal*, 5, 71–81.
- Scauflaire J., Gourgue M., Callebaut A., Munaut F. 2012: *Fusarium temperatum*, a mycotoxin-producing pathogen of maize. *Eur J Plant Pathol* 133: 911–922.

Uhlig S., Torp M., Heier B.T. 2006: Beauvericin and enniatins A, A1, B and B1 in Norwegian grain: a survey. Food Chemistry. 94: 193–201.

Wit M. 2012: Znaczenie *Fusarium verticillioides* w etiologii fuzariozy kolb kukurydzy. Praca doktorska 206pp.

Young J.C. 1995: Microwave-assisted extraction of the fungal metabolites ergosterol and total fatty acids. J. Agric. Food Chem. 43(11): 2904-2910.

Wnioski

2.1 Skrobia form flint charakteryzuje się większym udziałem amylozy

2.2 Istotny wpływ na zawartość amylozy w skrobi mają warunki środowiska

2.3 Istnieje duże ryzyko zanieczyszczenia kolb kukurydzy porażanych przez *F.temperatum* beauwerycyłą

Mierniki dla tematu badawczego 2:

Lp.	miernik ³	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana
1	Liczba analizowanych genotypów	120	120
2	Liczba obiektów (prób ziarniaków badanych pod kątem zawartości mykotoksyn i ergosterolu, udziału amylozy/amylopektyny	240	240

³ Podać miernik – np. ilość testów, prób, badanych genotypów etc.

3.3 Temat badawczy 3 Analiza populacji *F.temperatum* w zakresie cech istotnych w patogenezie i epidemiologii fuzariozy kolb kukurydzy

Cel tematu

Ocena patogeniczności, spektrum biosyntetyzowanych metabolitów oraz zmienności populacji *F.temperatum*

Cel został osiągnięty

Material i metody

A. pozyskanie izolatów *F.temperatum* do badań z zakresu spektrum biosyntetyzowanych metabolitów, patogeniczności i zmienności. Izolaty pochodziły z ziarniaków uzyskanych z kolb wykazujących objawy fuzariozy rozwijającej się w następstwie infekcji naturalnych. Izolacja i identyfikacja była/jest prowadzona z zastosowaniem standardowych metod mających zastosowanie w diagnostyce *Fusarium* (Kwaśna i in. 1991). Wiarygodność diagnostyki była/jest potwierdzana molekularnie, co w przypadku *F.temperatum* (z uwagi na jego podobieństwo do innych gatunków *Fusarium* z dawnej sekcji *Liseola*) jest działaniem nieodzownym. Analiza molekularna opierała się na sekwencjonowaniu EF-1 α oraz β -tubuliny uznawanych za podstawowe markery barkodingu. Zmienność badanej populacji określano na podstawie cech molekularnych.

B. analiza spektrum biosyntetyzowanych metabolitów *F.temperatum* prowadzono w oparciu o ziarniaki kukurydzy stanowiące podłoże, na którym w warunkach in-vitro prowadzono hodowlę patogena. Podłoże w ilości 50 g, po doprowadzeniu do wilgotności 45% a następnie zautoklawowaniu zaszczepiano zawiesiną zarodników o mianie 10⁶. Hodowla prowadzono w 750 ml kolbach Erlenmeyera przez dwa tygodnie. Po tym czasie przerośnięte przez *F.temperatum* podłoże liofilizowano. Zliofilizowany materiał zabezpieczano w torebkach polietylenowych i przechowywano do czasu analizy w temperaturze -75°C. Analizę spektrum biosyntetyzowanych metabolitów *F.temperatum* prowadzono w kierunku identyfikacji: fumonizyn, związków heptadepsydowych oraz ergosterolu. Analizie poddawano izolaty o przebadanej patogeniczności i różnych wartościach tej cechy.

- Analiza fumonizyn - Ekstrakcja fumonizyn była prowadzona mieszaniną metanolu i wody (3 +1, V/V) z próbek materiału uprzednio rozdrobnionego. Ekstrakty po przefiltrowaniu będą następnie oczyszczane na kolumnach jonowymiennych SAX i zbierane do fiolek. Uzyskany eluent następnie odparowano do sucha i przechowywano do momentu analizy w temperaturze 4°C. Analiza fumonizyn B₁ i B₂ była przeprowadzana metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej stosując chromatograf cieczowy HP 1050 wyposażony w detektor fluorescencyjny. Po przeprowadzeniu fumonizyn w pochodne o-ftaldialdehydowe (OPA), rozdział był prowadzony na kolumnie RP C18.
- Procedura analiz pochodnych heptadepsydowych - Ekstrakcję prowadzono z użyciem metanolu z próbek materiału uprzednio rozdrobnionego. Ekstrakty po przefiltrowaniu zatężano i oczyszczano na kolumnkach SPE C18 i zbierane do fiolek. Uzyskany eluent odparowano do sucha

i przechowywano do momentu analizy w temperaturze 4°C. Analizę przeprowadzano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej stosując chromatograf cieczowy HP 1050 wyposażony w detektor UV-VIS przy długości fali 205 nm. Rozdział był prowadzony na kolumnie RP C18, 250 x 4,6 mm, o wielkości ziarna 5 mikrometrów w systemie izokratycznym, stosując jako eluent roztwór acetonitrylu w wodzie (65:35 v/v).

C. Ocena patogeniczności izolatów *F.temperatum* została przeprowadzona metodą „toothpicks” będącą adaptacją metody opisanej przez Scauflaire i in. (2012). Inokulowane były 7 tygodniowe rośliny kukurydzy poprzez wprowadzenie w łodygę wykałaczką przerośniętej grzybnią *F.temperatum*. Po okresie 2 tygodni od momentu inokulacji rośliny były ścinane, pędy krojone a rozmiar nekrozy mierzony. Doświadczenie przeprowadzano przy 10 krotnym powtórzeniu dla każdego izolatu. Ocenie patogeniczności poddawano izolaty *F.temperatum*, których tożsamość gatunkowa została molekularnie potwierdzona.

Wyniki

A/ Analiza molekularna izolatów *F.temperatum*

Izolaty do badań pochodziły z ziarniaków uzyskanych z kolb wykazujących objawy fuzariozy rozwijającej się w następstwie infekcji naturalnych. Próby ziarniaków pochodziły z Radzikowa, Piotrkowa Borowskiego, Głuchowa oraz Skrzelewa. Ziarniaki wykładano na podłoże PDA w szalkach Petriego, a po uzyskaniu wzrostu plechy, grzybnię o cechach *Fusarium* spp. pasażowano na kosy. Wstępną identyfikację uzyskanych izolatów, przeprowadzano na podłożu SNA. Z izolatów o cechach *F. temperatum* wyprowadzano kultury jednozarodnikowe, które stanowiły podstawę do badań molekularnych.

Pełną charakterystykę molekularną z zastosowaniem technik barkodingu DNA tj. procedurę przewidzianą w projekcie, przeprowadzono dla 70 izolatów *F. temperatum*. Jako barkody DNA wykorzystano markery o uznanej skuteczności w identyfikacji gatunkowej workowców z rzędu Hypocreales: Translation Elongation Factor 1- α (EF-1 α) oraz fragment genu kodującego β -tubulinę. W celu zamplifikowania tych fragmentów genomu grzybów całkowite DNA izolatów *F.temperatum* poddawano reakcji amplifikacji z wykorzystaniem starterów specyficznych (White i in. 1990; O'Donnell i in. 1998; O'Donnell i Cigelnik 1997). Zestawienie starterów zastosowanych w doświadczeniach, ich sekwencje oraz odpowiadające im wielkości amplifikowanego fragmentu DNA przedstawia Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Charakterystyka starterów wykorzystanych do diagnostyki molekularnej izolatów *F. temperatum*.

Marker	Nazwa startera	Sekwencja startera	Wielkość amplikonu	Źródło
Elongation Factor 1- α	EF1	5'-ATGGGTAAGGAGGACAAGAC-3'	680 pz	O'Donnell i in. 1998
	EF2	5'-GGAAGTACCAGTGATCATGTT-3'		
β -tubulina	T1	5'-AACATGCGTGAGATTGTAAGT-3'	1220 pz	O'Donnell i Cigelnik 1997
	T22	5'-TCTGGATGTTGTTGGGAATCC-3'		

Reakcje amplifikacji prowadzono w termocyklarach Applied Biosystems: 2720 Thermal Cycler (96 Well) oraz Veriti 96 Well Thermal Cycler. Na każdą próbę sporządzano 20 μl mieszaniny reakcyjnej o składzie przedstawionym w Tabeli 3.2. Zastosowane warunki reakcji dla poszczególnych markerów zestawiono w Tabeli 3.

Rozdział produktów amplifikacji prowadzono w żelu agarozowym o stężeniu 1,3 % z dodatkiem barwnika fluoryzującego (bromku etydy) w buforze TBE (bufor Tris, kwas borowy, EDTA, pH 8,0). Elektroforezie poddawano 5 μl produktu amplifikacji.

Tabela 3.2. Skład mieszaniny reakcyjnej PCR

Składnik mieszaniny	Objętość
sterylna woda	14,0 μl
10X Taq Buffer	2,0 μl
25 mM MgCl_2	1,6 μl
10mM dNTP Mix	0,2 μl
starter forward	0,2 μl
starter reverse	0,2 μl
polimeraza Taq	0,2 μl
DNA	1,6 μl

Tabela 3.3 Warunki reakcji PCR dla poszczególnych markerów

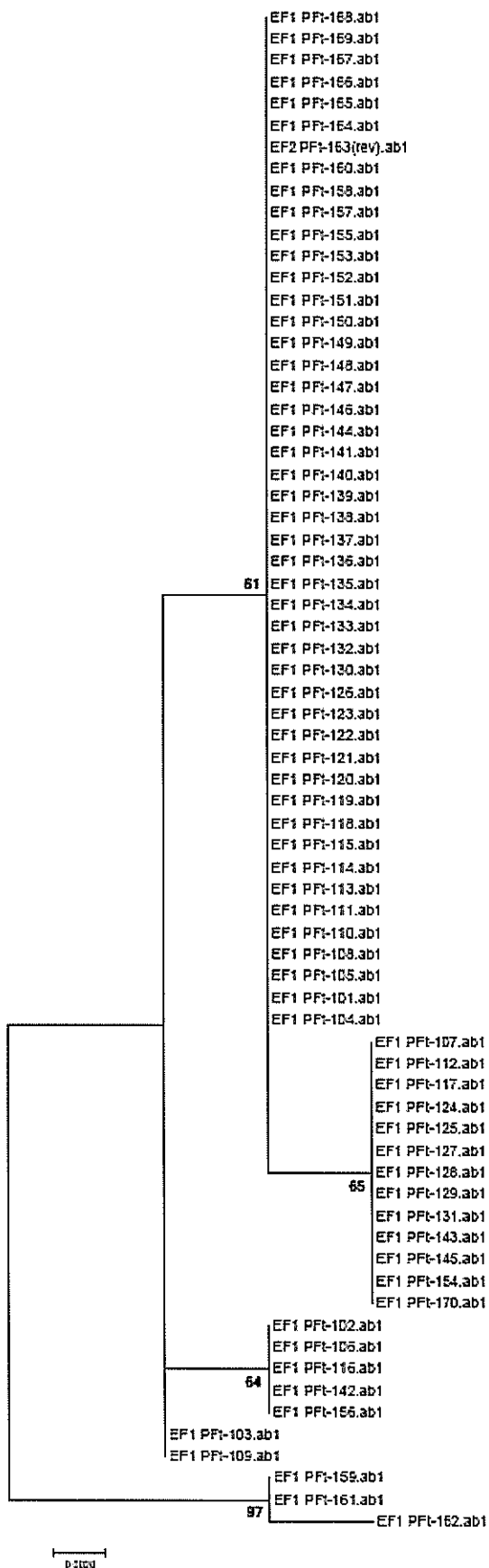
Etapy reakcji PCR	Marker			
	EF-1 α		β -tubulina	
Wstępna denaturacja	5 minut, 94 °C		5 minut, 94 °C	
Denaturacja		30 sekund 95 °C		35 sekund 94 °C
Przyłączanie starterów	40 cykli	45 sekund 58 °C	40 cykli	55 sekund 54 °C
Synteza nici komplementarnych		75 sekund 72 °C		90 sekund 72 °C
Końcowe wydłużanie syntetyzowanego odcinka DNA		7 minut, 72 °C		7 minut, 72 °C

Uzyskane amplikony oczyszczano i sekwencjonowano w Pracowni Sekwencjonowania Instytutu Biochemii i Biofizyki przy Państwowej Akademii Nauk. Uzyskane sekwencje, Translation Elongation Factor 1- α (EF-1 α) i β -tubuliny analizowano z wykorzystaniem programów bioinformatycznych (MEGA 6.0 oraz DNA Baser 3.2.5). Przynależność do gatunku weryfikowano za pomocą algorytmu BLAST (ang. *Basic Local Alignment Search Tool*) w oparciu o minimum 95% homologię uzyskanych sekwencji względem dostępnych w GenBank sekwencji izolatów gatunku *F.temperatum* (Tab. 3.4). Do analiz wybierano wyłącznie fragmenty sekwencji EF-1 α i β -tubuliny o wysokiej jakości odczytu, których długość wyniosła odpowiednio; 298 pz oraz 424 pz. Na podstawie przygotowanych przyrównań / dopasowań (ang. *alignment*) sekwencji wykonano analizę filogenetyczną za pomocą metody największej wiarygodności (Maximum Likelihood, ML) kolejno dla wszystkich analizowanych regionów EF-1 α (Ryc. 3.1) i β -tubulina (Ryc. 3.2).

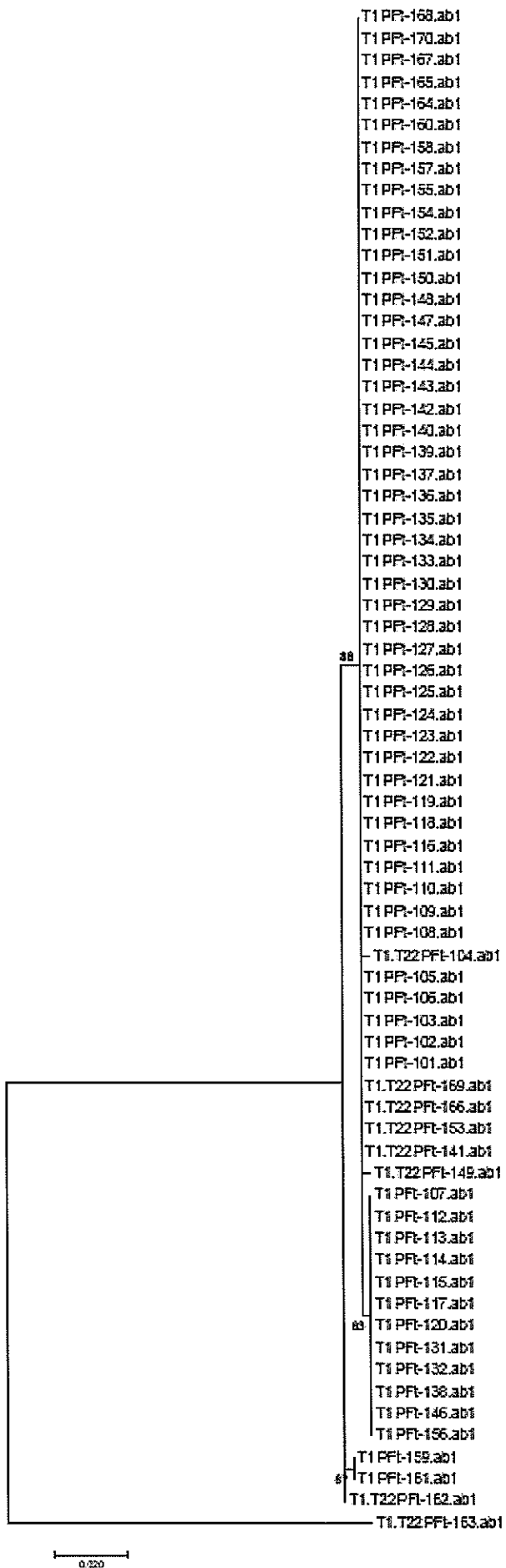
Tab. 3.4 Homologia uzyskanych sekwencji względem dostępnych w GenBank sekwencji izolatów gatunku *F. temperatum*

IZOLAT		BLAST Elongation Factor			BLAST B-tubulina		
		%	Sekwencja homologiczna	Gatunek	%	Sekwencja homologiczna	Gatunek
1	PFt-101	99.7%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,8%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
2	PFt-102	99.8%	KU902943	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
3	PFt-103	99.7%	JX987074	<i>F. temperatum</i>	99,5%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
4	PFt-104	99.8%	KC964119	<i>F. temperatum</i>	99,4%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
5	PFt-105	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,5%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
6	PFt-106	99.7%	KU902943	<i>F. temperatum</i>	98,7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
7	PFt-107	99.7%	JX987074	<i>F. temperatum</i>	99,5%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
8	PFt-108	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
9	PFt-109	99.7%	KU902943	<i>F. temperatum</i>	99,7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
10	PFt-110	99.8%	KT447148	<i>F. temperatum</i>	99,6%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
11	PFt-111	99.8%	KT447148	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
12	PFt-112	99.7%	JX987074	<i>F. temperatum</i>	99,3%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
13	PFt-113	99.7%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	98,4%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
14	PFt-114	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,0%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
15	PFt-115	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,4%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
16	PFt-116	99.8%	KU902943	<i>F. temperatum</i>	99,8%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
17	PFt-117	99.7%	JX987074	<i>F. temperatum</i>	99,5%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
18	PFt-118	99.5%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,1%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
19	PFt-119	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,3%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
20	PFt-120	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,2%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
21	PFt-121	99.7%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,3%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
22	PFt-122	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
23	PFt-123	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,6%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
24	PFt-124	99.7%	JX987074	<i>F. temperatum</i>	99,6%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
25	PFt-125	99.7%	JX987074	<i>F. temperatum</i>	99,9%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
26	PFt-126	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
27	PFt-127	99.5%	JX987074	<i>F. temperatum</i>	99,7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
28	PFt-128	99.7%	JX987074	<i>F. temperatum</i>	99,8%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
29	PFt-129	99.7%	JX987074	<i>F. temperatum</i>	99,6%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
30	PFt-130	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	98,6%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
31	PFt-131	99.7%	JX987074	<i>F. temperatum</i>	99,3%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
32	PFt-132	100.0%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,6%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
33	PFt-133	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,4%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
34	PFt-134	99.8%	KT447148	<i>F. temperatum</i>	99,8%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
35	PFt-135	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	98,5%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
36	PFt-136	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	98,6%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
37	PFt-137	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,5%	KC964135	<i>F. temperatum</i>

IZOLAT		BLAST Elongation Factor			BLAST B-tubulina		
		%	Sekwencja homologiczna	Gatunek	%	Sekwencja homologiczna	Gatunek
38	PfT-138	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,4%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
39	PfT-139	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,9%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
40	PfT-140	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
41	PfT-141	99.8%	JX987074	<i>F. temperatum</i>	99,0%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
42	PfT-142	99.7%	KU902943	<i>F. temperatum</i>	99,6%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
43	PfT-143	99.7%	JX987074	<i>F. temperatum</i>	99,7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
44	PfT-144	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
45	PfT-145	99.7%	JX987074	<i>F. temperatum</i>	99,4%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
46	PfT-146	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,3%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
47	PfT-147	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
48	PfT-148	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,8%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
49	PfT-149	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	97,8%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
50	PfT-150	99.8%	KT447148	<i>F. temperatum</i>	98,7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
51	PfT-151	99.5%	KC964119	<i>F. temperatum</i>	99,8%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
52	PfT-152	99.8%	KT447148	<i>F. temperatum</i>	99,5%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
53	PfT-153	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,3%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
54	PfT-154	99.7%	JX987074	<i>F. temperatum</i>	99,0%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
55	PfT-155	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,2%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
56	PfT-156	99.8%	KU902943	<i>F. temperatum</i>	99,5%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
57	PfT-157	99.8%	KT447148	<i>F. temperatum</i>	99,7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
58	PfT-158	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,9%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
59	PfT-159	99.8%	KC514067	<i>F. subglutinans</i>	99,5%	KC964143	<i>F. subglutinans</i>
60	PfT-160	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,9%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
61	PfT-161	99.7%	KM462951	<i>F. subglutinans</i>	99,6%	KC964143	<i>F. subglutinans</i>
62	PfT-162	99.8%	JX269005	<i>F. subglutinans</i>	98,2%	KC964143	<i>F. subglutinans</i>
63	PfT-163	99.7%	KC964119	<i>F. temperatum</i>	99,5%	HQ141627	<i>F. sporotrichoides</i>
64	PfT-164	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
65	PfT-165	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,2%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
66	PfT-166	99.5%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	98,4%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
67	PfT-167	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,8%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
68	PfT-168	99.8%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,9%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
69	PfT-169	99.5%	KM583803	<i>F. temperatum</i>	99,5%	KC964135	<i>F. temperatum</i>
70	PfT-170	99.5%	JX987074	<i>F. temperatum</i>	99,9%	KC964135	<i>F. temperatum</i>



Ryc. 3.1 Drzewo filogenetyczne obliczone za pomocą metody największej wiarygodności (Maximum Likelihood, ML) dla EF.



Ryc. 3.2. Drzewo filogenetyczne obliczone za pomocą metody największej wiarygodności (Maximum Likelihood, ML) dla β -tubuliny.

B/ Profil metabolitów wtórnych biosyntetyzowanych przez *Fusarium temperatum*

Profil metabolitów wtórnych biosyntetyzowanych przez izolaty *F.temperatum* przedstawia tabela 3.5. W badaniach uwzględniono 70 izolatów wspomnianego gatunku dla których biosyntezę metabolitów prowadzono na ziarniakach kukurydzy. Analiza została przeprowadzona w kierunku występowania fumonizyn (FB1 i FB2) oraz pochodnych heptadepsyptydowych (BEA i ENN).

Na kukurydzy, żaden z przebadanych 70 izolatów *F.temperatum* nie wytwarzał fumonizyn. Spośród przebadanych izolatów *F.temperatum* wszystkie tworzyły BEA oraz śladowe ilości ENN w przypadku 9 izolatów. Średni poziom BEA dla populacji przebadanych izolatów wynosił 73,67 ppm. Ilościowo najwięcej BEA biosyntetyzował izolat Pft 160 (560 ppm), najmniej izolat Pft 110, 131, 162, 164, 165, 166 (0.0 ppm).

Tab. 3.5. Profil metabolitów wtórnych *F.temperatum* biosyntetyzowanych na kukurydzy.

Lp	Izolat	FB1 [ppm]	FB2 [ppm]	BEA [ppm]	ENN [ppm]	ERG [ppm]	Lp	Izolat	FB1 [ppm]	FB2 [ppm]	BEA [ppm]	ENN [ppm]	ERG [ppm]
1	Ft-101-2016	--	--	40.25	--	66.30	36	Ft-136-2016	--	--	29.75	--	58.10
2	Ft-102-2016	--	--	6.00	--	3.10	37	Ft-137-2016	--	--	44.60	--	67.80
3	Ft-103-2016	--	--	10.25	--	15.20	38	Ft-138-2016	--	--	147.50	--	167.40
4	Ft-104-2016	--	--	66.75	--	32.70	39	Ft-139-2016	--	--	4.00	--	12.10
5	Ft-105-2016	--	--	35.73	--	12.10	40	Ft-140-2016	--	--	36.25	--	57.90
6	Ft-106-2016	--	--	4.50	--	2.10	41	Ft-141-2016	--	--	104.50	--	134.20
7	Ft-107-2016	--	--	46.81	+	37.50	42	Ft-142-2016	--	--	297.50	--	194.70
8	Ft-108-2016	--	--	1.27	--	4.90	43	Ft-143-2016	--	--	40.00	--	65.30
9	Ft-109-2016	--	--	33.08	+	61.00	44	Ft-144-2016	--	--	18.50	--	145.30
10	Ft-110-2016	--	--	0.00	--	13.50	45	Ft-145-2016	--	--	90.25	--	190.30
11	Ft-111-2016	--	--	256.02	--	131.80	46	Ft-146-2016	--	--	65.00	--	123.10
12	Ft-112-2016	--	--	10.92	--	42.90	47	Ft-147-2016	--	--	3.00	--	13.70
13	Ft-113-2016	--	--	41.50	--	46.80	48	Ft-148-2016	--	--	6.50	--	2.60
14	Ft-114-2016	--	--	110.89	+	35.70	49	Ft-149-2016	--	--	34.00	--	67.90
15	Ft-115-2016	--	--	159.66	+	120.50	50	Ft-150-2016	--	--	9.50	--	12.20
16	Ft-116-2016	--	--	6.06	--	32.10	51	Ft-151-2016	--	--	38.50	--	45.10
17	Ft-117-2016	--	--	118.56	--	68.50	52	Ft-152-2016	--	--	238.75	--	168.40
18	Ft-118-2016	--	--	172.22	--	167.30	53	Ft-153-2016	--	--	258.75	--	189.20
19	Ft-119-2016	--	--	194.45	+	89.30	54	Ft-154-2016	--	--	13.85	--	32.90
20	Ft-120-2016	--	--	23.09	--	78.10	55	Ft-155-2016	--	--	36.83	--	63.80
21	Ft-121-2016	--	--	287.49	--	224.20	56	Ft-156-2016	--	--	57.68	--	115.80
22	Ft-122-2016	--	--	9.45	--	23.10	57	Ft-157-2016	--	--	5.88	--	24.60
23	Ft-123-2016	--	--	4.25	--	4.90	58	Ft-158-2016	--	--	63.20	--	47.30
24	Ft-124-	--	--	74.00	--	32.00	59	Ft-159-	--	--	77.73	+	23.80

25	2016 Ft-125- 2016	--	--	94.25	--	124.00	60	2016 Ft-162- 2016	--	--	0.00	--	3.30
26	Ft-126- 2016	--	--	2.75	--	3.70	61	Ft-163- 2016	--	--	450.50	--	186.20
27	Ft-127- 2016	--	--	39.50	--	67.00	62	Ft-164- 2016	--	--	0.00	--	2.30
28	Ft-128- 2016	--	--	2.86	--	43.60	63	Ft-165- 2016	--	--	0.00	--	34.60
29	Ft-129- 2016	--	--	48.50	--	174.00	64	Ft-166- 2016	--	--	0.00	--	12.40
30	Ft-130- 2016	--	--	31.93	--	21.40	65	Ft-167- 2016	--	--	6.47	--	32.50
31	Ft-131- 2016	--	--	0.00	--	1.30	66	Ft-168- 2016	--	--	26.53	--	12.80
32	Ft-132- 2016	--	--	62.33	+	35.70	67	Ft-169- 2016	--	--	131.53	+	132.00
33	Ft-133- 2016	--	--	69.62	--	145.20	68	Ft-170- 2016	--	--	60.41	--	80.10
34	Ft-134- 2016	--	--	57.77	--	178.10	69	Ft-160- 2016	--	--	565.70	+	213.10
35	Ft-135- 2016	--	--	65.39	--	92.10	70	Ft-161- 2016	--	--	5.57	--	3.60

- nie stwierdzono

C/ Ocena patogeniczności izolatów

Ocenę patogeniczności przeprowadzono dla 70 izolatów *F.temperatum* (Tab. 3.6). Stwierdzono istotne zróżnicowanie tej cechy w obrębie badanej populacji patogenów. Izolatami dającymi najbardziej rozległe zmiany na pędach inokulowanych roślin były izolaty P Ft-158, P Ft-156, P Ft-117, P Ft-125 oraz P Ft-136. Stanowiły one podstawę do badań podatności genotypów kukurydzy przez *F.temperatum*.

Tab. 3.6. Ocena patogeniczności izolatów *F. temperatum*

IZOLAT	DŁUGOŚĆ ¹			SZEROKOŚĆ ²			INDEKS PORAZENIA ³		
P Ft-101	1,66	±	0,69 b-p	0,68	±	0,16 g-l	1,16	±	0,56 d-m
P Ft-102	1,65	±	0,34 b-p	0,66	±	0,18 c-l	1,09	±	0,36 b-m
P Ft-103	1,56	±	0,59 b-k	0,66	±	0,14 e-k	1,07	±	0,55 b-j
P Ft-104	1,57	±	0,45 b-k	0,59	±	0,15 a-h	0,93	±	0,37 b-f
P Ft-105	1,47	±	0,52 b-e	0,62	±	0,14 a-i	0,91	±	0,34 b-e
P Ft-106	1,67	±	0,36 b-r	0,66	±	0,23 c-l	1,14	±	0,55 d-m
P Ft-107	1,64	±	0,53 b-k	0,61	±	0,14 a-i	1,02	±	0,44 b-g
P Ft-108	1,80	±	0,68 c-v	0,66	±	0,13 d-k	1,24	±	0,60 e-o
P Ft-109	1,47	±	0,46 b-f	0,60	±	0,13 a-i	0,89	±	0,37 b-e
P Ft-110	1,59	±	0,53 b-k	0,63	±	0,17 a-i	1,01	±	0,43 b-g
P Ft-111	1,59	±	0,23 b-k	0,59	±	0,18 a-i	0,93	±	0,29 b-f
P Ft-112	1,56	±	0,57 b-k	0,64	±	0,20 b-j	1,05	±	0,78 b-j
P Ft-113	2,13	±	0,54 s-w	0,58	±	0,11 a-i	1,24	±	0,37 e-o
P Ft-114	1,62	±	0,66 b-m	0,53	±	0,10 a-b	0,86	±	0,38 a-d
P Ft-115	1,94	±	0,65 i-w	0,51	±	0,13 a-	1,04	±	0,53 b-l
P Ft-116	1,84	±	0,65 d-v	0,64	±	0,24 d-j	1,23	±	0,69 f-n
P Ft-117	2,31	±	0,63 w-x	0,65	±	0,22 c-k	1,56	±	0,85 m-p
P Ft-118	2,04	±	0,63 p-w	0,63	±	0,15 a-i	1,23	±	0,31 e-n
P Ft-119	1,88	±	0,47 g-w	0,55	±	0,16 a-f	1,01	±	0,30 b-i
P Ft-120	1,82	±	0,44 c-v	0,64	±	0,12 a-k	1,17	±	0,35 d-n
P Ft-121	1,89	±	0,42 j-w	0,62	±	0,13 a-i	1,14	±	0,22 d-m
P Ft-122	1,89	±	0,70 k-w	0,67	±	0,19 g-l	1,28	±	0,63 f-p
P Ft-123	1,73	±	0,87 b-s	0,60	±	0,11 a-i	1,07	±	0,62 b-l
P Ft-124	1,61	±	0,63 b-k	0,56	±	0,15 a-f	0,94	±	0,55 b-f
P Ft-125	2,62	±	0,70 x-x	0,59	±	0,17 a-i	1,58	±	0,68 n-p
P Ft-126	1,73	±	0,44 b-s	0,66	±	0,13 d-k	1,17	±	0,43 d-m
P Ft-127	2,02	±	0,58 o-w	0,67	±	0,14 g-l	1,33	±	0,38 h-p
P Ft-128	1,89	±	0,52 g-w	0,64	±	0,14 a-k	1,24	±	0,48 e-p
P Ft-129	2,01	±	0,38 l-w	0,68	±	0,21 d-l	1,36	±	0,44 g-p
P Ft-130	1,97	±	0,53 l-w	0,66	±	0,11 d-k	1,32	±	0,41 g-p
P Ft-131	1,91	±	0,74 k-w	0,64	±	0,12 a-j	1,24	±	0,58 e-n
P Ft-132	2,09	±	0,61 r-w	0,65	±	0,14 d-k	1,42	±	0,64 k-p
P Ft-133	1,74	±	0,48 b-s	0,59	±	0,09 a-i	1,05	±	0,39 b-l
P Ft-134	2,21	±	0,64 v-x	0,64	±	0,13 a-j	1,42	±	0,55 k-p
P Ft-135	1,80	±	0,64 c-s	0,64	±	0,14 c-j	1,18	±	0,54 d-m

Tab. 3.6 cd. Ocena patogeniczności izolatów *F. temperatum*

IZOLAT	DŁUGOŚĆ ¹			SZEROKOŚĆ ²			INDEKS PORAŻENIA ³		
PfT-136	2,18	±	0,76 u-x	0,75	±	0,10 j-l	1,65	±	0,63 o-p
PfT-137	1,62	±	0,39 b-n	0,59	±	0,11 a-i	0,98	±	0,36 b-i
PfT-138	1,85	±	0,82 f-v	0,56	±	0,16 a-f	1,06	±	0,62 b-j
PfT-139	1,55	±	0,40 b-k	0,65	±	0,22 c-k	1,02	±	0,46 b-j
PfT-140	1,85	±	0,66 d-v	0,58	±	0,11 a-h	1,07	±	0,44 b-l
PfT-141	1,74	±	0,70 b-s	0,62	±	0,20 a-i	1,17	±	0,73 d-m
PfT-142	1,87	±	0,72 j-v	0,65	±	0,16 d-k	1,21	±	0,56 e-n
PfT-143	1,47	±	0,42 b-g	0,57	±	0,16 a-g	0,88	±	0,42 a-e
PfT-144	1,63	±	0,60 b-l	0,58	±	0,12 a-h	0,95	±	0,40 b-f
PfT-145	1,73	±	0,72 b-s	0,58	±	0,06 a-i	0,99	±	0,38 b-i
PfT-146	2,08	±	0,94 o-w	0,70	±	0,16 h-l	1,42	±	0,64 j-p
PfT-147	1,63	±	0,40 b-n	0,63	±	0,09 a-j	1,03	±	0,31 b-j
PfT-148	1,54	±	0,29 b-h	0,62	±	0,14 a-i	0,96	±	0,29 b-f
PfT-149	2,03	±	0,85 o-w	0,55	±	0,18 a-d	1,12	±	0,51 c-l
PfT-150	1,61	±	0,32 b-l	0,59	±	0,18 a-i	0,98	±	0,39 b-g
PfT-151	1,90	±	0,60 k-w	0,54	±	0,17 a-c	1,05	±	0,50 b-j
PfT-152	1,65	±	0,65 b-p	0,63	±	0,15 a-j	1,01	±	0,35 b-i
PfT-153	1,56	±	0,53 b-k	0,58	±	0,15 a-h	0,91	±	0,38 b-f
PfT-154	2,09	±	0,59 r-w	0,66	±	0,15 e-k	1,37	±	0,47 i-p
PfT-155	1,92	±	0,54 i-w	0,55	±	0,12 a-f	1,02	±	0,19 b-j
PfT-156	2,15	±	0,48 r-x	0,74	±	0,14 i-l	1,53	±	0,16 l-p
PfT-157	1,83	±	0,69 c-v	0,69	±	0,21 h-l	1,29	±	0,61 f-p
PfT-158	2,07	±	0,96 r-w	0,66	±	0,16 d-k	1,43	±	0,84 k-p
PfT-159	1,94	±	0,49 o-w	0,59	±	0,10 a-h	1,13	±	0,31 d-l
PfT-160	1,69	±	0,45 b-p	0,61	±	0,12 a-i	1,01	±	0,29 b-h
PfT-161	1,71	±	0,50 b-p	0,66	±	0,15 e-k	1,14	±	0,43 d-m
PfT-162	1,72	±	0,48 b-p	0,60	±	0,12 a-i	1,02	±	0,33 b-g
PfT-163	1,61	±	0,36 b-k	0,78	±	0,06 l-l	1,27	±	0,36 f-p
PfT-164	1,53	±	0,66 b-h	0,63	±	0,14 a-j	1,03	±	0,55 b-j
PfT-165	1,86	±	0,50 d-v	0,66	±	0,18 d-k	1,27	±	0,56 f-p
PfT-166	1,34	±	0,26 a-c	0,51	±	0,09 a-	0,68	±	0,17 a-b
PfT-167	1,38	±	0,44 b	0,58	±	0,15 a-g	0,79	±	0,29 a-c
PfT-168	1,56	±	0,61 b-k	0,69	±	0,21 i-l	1,12	±	0,58 d-l
PfT-169	1,58	±	0,47 b-k	0,65	±	0,15 e-j	1,05	±	0,45 b-h
PfT-170	1,54	±	0,63 b-k	0,79	±	0,17 l-l	1,23	±	0,52 e-p

¹DL – długość nekrozy [cm] powstałej po inokulacji pędu *F. temperatum*

²SZ – szerokość nekrozy [cm] powstałej po inokulacji pędu *F. temperatum*

³IND – indeks porażenia SZ*DL