

3. Opis tematów badawczych

3. 1. *Temat badawczy 1:* Ocena podatności linii hodowlanych *Zea mays* na porażenie przez *Fusarium temperatum*

Cel tematu

Ocena stopnia porażenia kolb kukurydzy przez *Fusarium temperatum* celem rozpoznania i określenia znaczenia tego grzyba jako sprawcy fuzariozy kolb kukurydzy.

Materiał i metody (opisać jak w publikacji)

Z uwagi na występującą dużą zmienność w doświadczeniach polowych planowany układ doświadczenia w 2018 roku odpowiadał schematowi badań z poprzednich lat (2015-2017).

- Inokulacyjne doświadczenia polowe

Materiał badawczy stanowiły istotne i mające znaczenie gospodarcze w Polsce linie podgatunków kukurydzy: kukurydzy pastewnej – koński ząb (*Zea mays* var. *indentata*) oraz kukurydzy zwykłej (*Zea mays* var. *indurata*). Doświadczenie założono na terenie pól doświadczalnych IHAR-PIB w Radzikowie, Hodowli Roślin Smolice (HRS) i Małopolskiej Hodowli Roślin Oddział w Kobierzycach (MHR). Zgodnie z założeniami uwzględniono w badaniach ogółem 120 genotypów rocznie, w tym 60 form kukurydzy typu flint oraz 60 form kukurydzy typu dent. Każdy z genotypów wysiano w dwóch miejscowościach w Radzikowie i Smolicach oraz Radzikowie i Kobierzycach. W każdej lokalizacji zastosowano 2 powtórzenia dla każdego genotypu kukurydzy, gdzie jedno powtórzenie stanowiły 10 zebranych inokulowanych kolb.

Inokulum stanowiła zawiesina zarodników o mianie 10^6 / ml, którą wprowadzano do kolb metodą „nail punch” (Wit i in. 2011). Inokulację kukurydzy przeprowadzano w fazie R2 jej rozwoju i obejmowała ona w pojedynczym powtórzeniu 10 kolb. Układ doświadczenia zakładał zastosowanie dwóch powtórzeń.

- Przygotowanie inokulum

Inokulum przygotowano w oparciu o 5 izolatów *F. temperatum* po uprzedniej weryfikacji ich patogeniczności. Weryfikację patogeniczności wykonano w doświadczeniu szklarniowym przy zastosowaniu metody inokulacji typu „toothpicks” opisanej w temacie 3. Spośród 70 izolatów *F. temperatum* wybrano 5 najbardziej patogenicznych, wobec roślin kukurydzy ocenianych w warunkach szklarniowych. Jako podłoże do wzrostu grzybów zastosowano ziarniaki po uprzednim ich doprowadzeniu do wilgotności 45 % i zautoklawowaniu. Hodowlę prowadzono przez okres 3 tygodni, po czym jej wzrost przerywano a zarodniki wymywano z powierzchni ziarniaków wodą destylowaną.

- Ocena stopnia porażenia kukurydzy (fenotypowanie)

Stopień porażenia inokulowanych kolb kukurydzy szacowano w fazie dojrzałości zbiorczej. Stosowano 6 punktową skalę porażenia o następującej konstrukcji: 0- kolby bez oznak porażenia, 1- bardzo słabe porażenie do 3%, 2- słabe porażenie (3 -10%), 3- średnie porażenie, (10 – 30%), 4- silne porażenie (30 – 50%), 5- bardzo silne porażenie ponad 50 %.

Wit M., Warzecha R., Mirzwa-Mróz E., Jabłońska E., Ochodziński P., Waśkiewicz A., Wakuliński W. 2011. Susceptibility of flint and dent maize ears to *Fusarium* species. *Phytopathologia*. 60: 35-45.

Wyniki

*Analiza stopnia porażenia kolb kukurydzy przez *F. temperatum**

Badaniami objęto 120 genotypów kukurydzy wytypowanych do badań przez dwie stacje hodowlane (A i B). Doświadczenie było realizowane na terenie pól doświadczalnych Państwowego Instytutu Badawczego IHAR w Radzikowie, Hodowli Roślin Smolice Sp. z o. o. Grupa IHAR (HRS Smolice) oraz Małopolskiej Hodowli Roślin oddział w Kobierzycach (MHR Kobierzyce), gdzie ocenie poddawano odpowiednio 60, 60 i 120 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 tabelach 1.1-1.7 oraz na rycinach 1.1-1.8.

Zakres zmienności cechy dla badanych genotypów wałał się od 0,54 (dla genotypu S-20) do 2,88 w przypadku genotypu o numerze kodowym K-47 (tabela 1.1).

Średni stopień porażenia materiałów pochodzących z hodowli MHR Kobierzyce (1,56) i HRS Smolice (1,39) różnił się znacznie i różnica ta przy $\alpha = 0,05$ była statystycznie istotna ($F=51,44 \quad p=0,0000$).

Formy flint pochodzące z hodowli MHR Kobierzyce były porażone w zakresie od 0,80 do 2,28 (rycina 1.1), natomiast dent od 0,85 do 2,88 (rycina 1.2).

Formy flint pochodzące z hodowli HRS Smolice były porażone w zakresie 0,54 do 2,35 (rycina 1.3), natomiast dent od 1,03 do 2,03 (rycina 1.4).

W przypadku materiałów pochodzących z hodowli HRS Smolice testowanych w Smolicach (tabela 1.2) stwierdzono:

- zmienność porażenia kolb badanych genotypów od 0,65 dla genotypu o numerze kodowym S-20 do 3,25 dla genotypu o numerze S-30.
- Formy flint były porażone w zakresie od 0,65 (S-20) do 3,25 (S-30), natomiast dent od 1,05 (S-31) do 2,20 (S-45).

W przypadku materiałów pochodzących z hodowli MHR Kobierzyce testowanych w Kobierzycach (tabela 1.3) stwierdzono:

- zmienność porażenia kolb badanych genotypów od 0,50 dla genotypu o numerze kodowym K-23 do 3,45 dla genotypu o numerze K-45.
- Formy flint były porażone w zakresie od 0,50 (K-23) do 3,05 (K-3), natomiast dent od 0,65 (K-57) do 3,45 (K-45).

W przypadku materiałów pochodzących z hodowli HRS Smolice testowanych w Radzikowie (tabela 1.4) stwierdzono:

- zmienność porażenia kolb badanych genotypów od 0,42 dla genotypu o numerze kodowym S-20 do 2,55 dla genotypu o numerze S-56.
- Formy flint były porażone w zakresie od 0,42 (S-20) do 1,95 (S-24), natomiast dent od 0,70 (S-44) do 2,55 (S-56).

W przypadku materiałów pochodzących z hodowli MHR Kobierzyce testowanych w Radzikowie (tabela 1.5) stwierdzono:

- zmienność porażenia kolb badanych genotypów od 0,70 dla genotypu o numerze kodowym K-26 do 3,15 dla genotypu o numerze K-46.
- Formy flint były porażone w zakresie od 0,70 (K-26) do 2,70 (K-4), natomiast dent od 1,05 (K-57) do 3,15 (K-46).

Stopień porażenia materiałów pochodzących z hodowli A (Smolice i Radzików) i B (Kobierzyce i Radzików) różnił się nieznacznie, lecz różnica ta była istotna statystycznie. W przypadku materiału roślinnego pochodzącego z hodowli A i B średni stopień porażenia kolb wynosił odpowiednio 1,39 i 1,56 ($F= 51,44 \quad p=0,0000$) (**rycina 1.8**).

W przypadku materiałów pochodzących z hodowli HRS Smolice, testowanych w Smolicach i Radzikowie (hodowla A) zmienność porażenia kolb badanych genotypów wała się od 0,54 dla genotypu o numerze kodowym S-20 do 2,35 dla genotypu o numerze S-30. Formy flint pochodzące z tej hodowli były porażone w zakresie od 0,54 do 2,35, natomiast dent od 1,03 do 2,03 (**tabela 1.6**).

Zakres zmienności badanej cechy dla materiałów pochodzących z hodowli MHR Kobierzyce, testowanych w Kobierzycach i Radzikowie (hodowla B) wała się od wartości 0,80 dla genotypu o numerze kodowym K-26 do 2,88 dla genotypu K-47. Formy flint pochodzące z tej hodowli były porażone w zakresie 0,80 do 2,28, natomiast dent od 0,85 do 2,88 (**tabela 1.7**).

Na podstawie przeprowadzonej analizy wariancji, z ryzykiem błędu $\alpha =0,05$ stwierdzono istotny wpływ warunków środowiska na stopień porażenia badanych genotypów kukurydzy ($F=40,41 \quad p=0,000$). Średni stopień porażenia materiałów badanych w Radzikowie wynosił 1,38 i był istotnie mniejszy niż w Smolicach (1,51) i Kobierzycach (1,64) (**rycina 1.5**). Formy flint kukurydzy były istotnie słabiej porażane niż dent (**rycina 1.6**). Stopień porażenia roślin wynosił odpowiednio 1,38 i 1,57. Zależność taką obserwowano w przypadku trzech lokalizacji doświadczenia tj. Smolice, Kobierzyce i Radzików. Porażenie form dent i flint wynosiło odpowiednio:

- w Smolicach 1,58 i 1,43 ($F=9,70 \quad p=0,0018$),
- w Radzikowie 1,45 i 1,30 ($F=20,90 \quad p=0,0000$)
- w Kobierzycach 1,81 i 1,47 ($F=39,39 \quad p=0,0000$)

Różnice w trzech lokalizacjach doświadczenia były istotne statystycznie (**rycina 1.7**).

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

Lp	Genotyp	średni stopień porażenia			Lp	Genotyp	średni stopień porażenia		
1	S-1	1,83	±	1,34	31	S-31	1,25	±	0,63
2	S-2	1,16	±	0,64	32	S-32	1,69	±	0,69
3	S-3	1,78	±	1,12	33	S-33	1,03	±	0,58
4	S-4	1,35	±	0,62	34	S-34	1,35	±	0,53
5	S-5	1,30	±	0,76	35	S-35	1,48	±	0,72
6	S-6	1,30	±	0,66	36	S-36	1,46	±	0,72
7	S-7	0,95	±	0,71	37	S-37	1,68	±	0,83
8	S-8	1,68	±	0,89	38	S-38	1,60	±	0,84
9	S-9	1,23	±	0,63	39	S-39	1,23	±	0,77
10	S-10	1,33	±	0,53	40	S-40	1,03	±	0,66
11	S-11	0,83	±	0,68	41	S-41	1,55	±	0,75
12	S-12	1,50	±	0,99	42	S-42	1,54	±	0,76
13	S-13	1,15	±	0,92	43	S-43	1,80	±	0,88
14	S-14	1,18	±	0,64	44	S-44	1,25	±	0,95
15	S-15	1,05	±	0,76	45	S-45	1,90	±	1,34
16	S-16	1,08	±	0,66	46	S-46	1,15	±	0,70
17	S-17	1,00	±	0,73	47	S-47	1,38	±	0,63
18	S-18	1,10	±	0,59	48	S-48	1,23	±	0,48
19	S-19	1,33	±	0,70	49	S-49	1,25	±	0,63
20	S-20	0,54	±	0,51	50	S-50	1,55	±	0,93
21	S-21	1,25	±	0,71	51	S-51	1,58	±	0,96
22	S-22	0,90	±	0,50	52	S-52	1,26	±	0,55
23	S-23	1,68	±	0,64	53	S-53	1,18	±	0,38
24	S-24	1,59	±	0,82	54	S-54	1,45	±	0,81
25	S-25	1,68	±	0,80	55	S-55	1,68	±	0,76
26	S-26	1,55	±	0,64	56	S-56	2,03	±	1,17
27	S-27	1,03	±	0,72	57	S-57	1,85	±	0,58
28	S-28	1,48	±	0,68	58	S-58	1,49	±	0,51
29	S-29	1,17	±	0,77	59	S-59	1,15	±	0,74
30	S-30	2,35	±	1,46	60	S-60	1,77	±	1,01

Tabela 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	1,03	±	0,48	91	K-31	1,73	±	0,60
62	K-2	1,53	±	0,74	92	K-32	1,30	±	0,61
63	K-3	2,28	±	1,20	93	K-33	1,33	±	0,62
64	K-4	2,15	±	0,98	94	K-34	1,53	±	0,64
65	K-5	1,16	±	0,37	95	K-35	1,85	±	0,87
66	K-6	1,33	±	0,69	96	K-36	1,10	±	0,38
67	K-7	1,13	±	0,47	97	K-37	1,48	±	0,72
68	K-8	1,38	±	0,63	98	K-38	1,95	±	0,75
69	K-9	1,08	±	0,43	99	K-39	1,14	±	0,48
70	K-10	1,05	±	0,45	100	K-40	2,14	±	1,00
71	K-11	1,15	±	0,43	101	K-41	1,95	±	1,01
72	K-12	1,65	±	0,80	102	K-42	2,83	±	0,90
73	K-13	1,85	±	0,77	103	K-43	0,93	±	0,42
74	K-14	1,50	±	0,93	104	K-44	1,35	±	0,62
75	K-15	1,20	±	0,52	105	K-45	2,53	±	1,09
76	K-16	1,72	±	0,86	106	K-46	2,80	±	0,82
77	K-17	1,25	±	0,49	107	K-47	2,88	±	0,82
78	K-18	1,25	±	0,54	108	K-48	1,73	±	0,88
79	K-19	2,18	±	0,81	109	K-49	2,21	±	0,66
80	K-20	2,03	±	1,12	110	K-50	2,00	±	1,01
81	K-21	1,44	±	0,60	111	K-51	1,13	±	0,56
82	K-22	1,72	±	0,86	112	K-52	1,03	±	0,53
83	K-23	0,88	±	0,61	113	K-53	1,40	±	0,67
84	K-24	1,80	±	0,94	114	K-54	1,43	±	0,64
85	K-25	1,20	±	0,41	115	K-55	1,08	±	0,69
86	K-26	0,80	±	0,46	116	K-56	1,63	±	0,59
87	K-27	1,60	±	0,78	117	K-57	0,85	±	0,53
88	K-28	1,62	±	0,75	118	K-58	1,80	±	0,65
89	K-29	0,83	±	0,55	119	K-59	1,75	±	0,59
90	K-30	1,43	±	0,59	120	K-60	1,90	±	0,71

Tabela 1.2. Średni stopień porażenia 60 genotypów kukurydzy (SH Smolice) form Flint (S1-S30) oraz Dent (S31-S60) przez *F. temperatum* w doświadczeniu założonym w Smolicach

Lp	Genotyp	średni stopień porażenia			Lp	Genotyp	średni stopień porażenia		
1	S-1	2,55	±	1,19		31	S-31	1,05	± 0,22
2	S-2	1,39	±	0,78		32	S-32	1,65	± 0,59
3	S-3	2,50	±	1,00		33	S-33	1,15	± 0,37
4	S-4	1,50	±	0,69		34	S-34	1,65	± 0,49
5	S-5	1,35	±	0,75		35	S-35	1,85	± 0,67
6	S-6	1,35	±	0,49		36	S-36	1,60	± 0,82
7	S-7	0,90	±	0,85		37	S-37	2,05	± 0,94
8	S-8	1,65	±	0,81		38	S-38	1,35	± 0,59
9	S-9	1,20	±	0,41		39	S-39	1,50	± 0,83
10	S-10	1,25	±	0,44		40	S-40	1,25	± 0,64
11	S-11	0,90	±	0,72		41	S-41	1,85	± 0,88
12	S-12	2,15	±	0,93		42	S-42	2,05	± 0,69
13	S-13	0,80	±	0,70		43	S-43	2,05	± 0,94
14	S-14	1,10	±	0,64		44	S-44	1,80	± 0,95
15	S-15	1,21	±	0,79		45	S-45	2,20	± 1,28
16	S-16	1,21	±	0,42		46	S-46	1,30	± 0,66
17	S-17	0,90	±	0,64		47	S-47	1,65	± 0,75
18	S-18	1,20	±	0,52		48	S-48	1,35	± 0,59
19	S-19	1,74	±	0,56		49	S-49	1,30	± 0,73
20	S-20	0,65	±	0,49		50	S-50	1,65	± 0,81
21	S-21	1,55	±	0,83		51	S-51	1,95	± 0,94
22	S-22	1,00	±	0,46		52	S-52	1,21	± 0,42
23	S-23	2,00	±	0,59		53	S-53	1,25	± 0,44
24	S-24	1,25	±	0,64		54	S-54	1,30	± 0,73
25	S-25	1,50	±	0,69		55	S-55	1,65	± 0,67
26	S-26	1,55	±	0,69		56	S-56	1,50	± 0,69
27	S-27	0,72	±	0,67		57	S-57	1,80	± 0,62
28	S-28	1,65	±	0,81		58	S-58	1,50	± 0,51
29	S-29	0,75	±	0,45		59	S-59	1,30	± 0,86
30	S-30	3,25	±	1,16		60	S-60	1,74	± 1,05

Tabela 1.3. Średni stopień porażenia 60 genotypów kukurydzy (MHR Kobierzyce) form Flint (K1-K30) oraz Dent (K31-K60) przez *F. temperatum* w doświadczeniu założonym w Kobierzycach

Lp	Genotyp	średni stopień porażenia			Lp	Genotyp	średni stopień porażenia		
1	K-1	1,20	±	0,41	31	K-31	1,85	±	0,67
2	K-2	1,68	±	0,75	32	K-32	1,50	±	0,69
3	K-3	3,05	±	1,10	33	K-33	1,00	±	0,32
4	K-4	1,60	±	0,68	34	K-34	1,55	±	0,60
5	K-5	1,10	±	0,31	35	K-35	1,68	±	0,82
6	K-6	1,65	±	0,81	36	K-36	1,10	±	0,31
7	K-7	1,28	±	0,46	37	K-37	1,65	±	0,75
8	K-8	1,32	±	0,58	38	K-38	2,20	±	0,70
9	K-9	1,17	±	0,51	39	K-39	0,94	±	0,42
10	K-10	1,15	±	0,49	40	K-40	2,90	±	0,64
11	K-11	1,15	±	0,37	41	K-41	2,60	±	0,99
12	K-12	1,60	±	0,82	42	K-42	3,40	±	0,50
13	K-13	1,90	±	0,85	43	K-43	0,75	±	0,44
14	K-14	2,00	±	1,12	44	K-44	1,60	±	0,68
15	K-15	1,00	±	0,46	45	K-45	3,45	±	0,51
16	K-16	1,85	±	0,99	46	K-46	2,45	±	0,60
17	K-17	1,30	±	0,47	47	K-47	3,15	±	0,81
18	K-18	1,15	±	0,59	48	K-48	2,00	±	1,03
19	K-19	1,95	±	0,69	49	K-49	2,68	±	0,48
20	K-20	2,88	±	0,78	50	K-50	2,65	±	0,88
21	K-21	1,32	±	0,67	51	K-51	1,10	±	0,45
22	K-22	1,26	±	0,56	52	K-52	0,75	±	0,44
23	K-23	0,50	±	0,51	53	K-53	1,20	±	0,52
24	K-24	1,65	±	0,93	54	K-54	1,55	±	0,76
25	K-25	1,40	±	0,50	55	K-55	0,80	±	0,70
26	K-26	0,90	±	0,45	56	K-56	1,55	±	0,60
27	K-27	1,90	±	0,91	57	K-57	0,65	±	0,67
28	K-28	1,47	±	0,61	58	K-58	1,95	±	0,69
29	K-29	0,80	±	0,52	59	K-59	1,55	±	0,60
30	K-30	1,10	±	0,31	60	K-60	2,15	±	0,81

Tabela 1.4. Średni stopień porażenia 60 genotypów kukurydzy (SH Smolice) form Flint (S1-S30) oraz Dent (S31-S60) przez *F. temperatum* w doświadczeniu założonym w Radzikowie

Lp	Genotyp	średni stopień porażenia				Lp	Genotyp	średni stopień porażenia		
1	S-1	1,10	±	1,07		31	S-31	1,45	±	0,83
2	S-2	0,95	±	0,39		32	S-32	1,74	±	0,81
3	S-3	1,05	±	0,69		33	S-33	0,90	±	0,72
4	S-4	1,20	±	0,52		34	S-34	1,05	±	0,39
5	S-5	1,25	±	0,79		35	S-35	1,10	±	0,55
6	S-6	1,24	±	0,83		36	S-36	1,32	±	0,58
7	S-7	1,00	±	0,56		37	S-37	1,30	±	0,47
8	S-8	1,70	±	0,98		38	S-38	1,85	±	0,99
9	S-9	1,26	±	0,81		39	S-39	0,95	±	0,60
10	S-10	1,42	±	0,61		40	S-40	0,80	±	0,62
11	S-11	0,75	±	0,64		41	S-41	1,25	±	0,44
12	S-12	0,85	±	0,49		42	S-42	1,00	±	0,33
13	S-13	1,50	±	1,00		43	S-43	1,55	±	0,76
14	S-14	1,25	±	0,64		44	S-44	0,70	±	0,57
15	S-15	0,90	±	0,72		45	S-45	1,60	±	1,35
16	S-16	0,95	±	0,83		46	S-46	1,00	±	0,73
17	S-17	1,18	±	0,87		47	S-47	1,10	±	0,31
18	S-18	1,00	±	0,65		48	S-48	1,10	±	0,31
19	S-19	0,95	±	0,60		49	S-49	1,20	±	0,52
20	S-20	0,42	±	0,51		50	S-50	1,45	±	1,05
21	S-21	0,95	±	0,39		51	S-51	1,20	±	0,83
22	S-22	0,80	±	0,52		52	S-52	1,30	±	0,66
23	S-23	1,31	±	0,48		53	S-53	1,10	±	0,31
24	S-24	1,95	±	0,85		54	S-54	1,60	±	0,88
25	S-25	1,85	±	0,88		55	S-55	1,70	±	0,86
26	S-26	1,55	±	0,60		56	S-56	2,55	±	1,32
27	S-27	1,30	±	0,66		57	S-57	1,90	±	0,55
28	S-28	1,30	±	0,47		58	S-58	1,47	±	0,51
29	S-29	1,50	±	0,83		59	S-59	1,00	±	0,56
30	S-30	1,45	±	1,15		60	S-60	1,80	±	1,01

Tabela 1.5. Średni stopień porażenia 60 genotypów kukurydzy (MHR Kobierzyce) form Flint (K1-K30) oraz Dent (K31-K60) przez *F. temperatum* w doświadczeniu założonym w Radzikowie

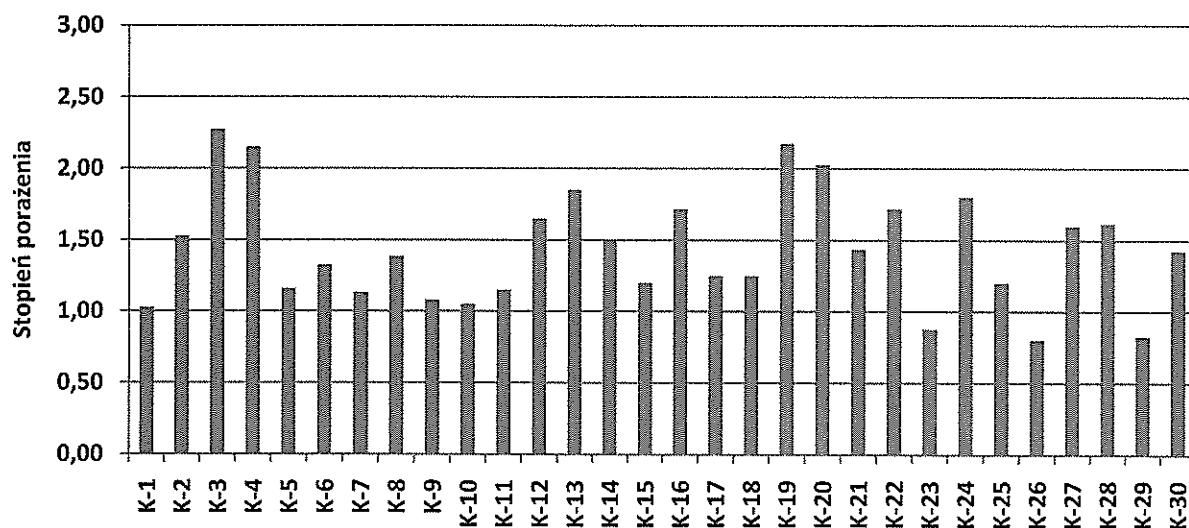
Lp	Genotyp	średni stopień porażenia				Lp	Genotyp	średni stopień porażenia		
1	K-1	0,85	±	0,49		31	K-31	1,60	±	0,50
2	K-2	1,35	±	0,70		32	K-32	1,10	±	0,45
3	K-3	1,50	±	0,69		33	K-33	1,65	±	0,67
4	K-4	2,70	±	0,92		34	K-34	1,50	±	0,69
5	K-5	1,22	±	0,43		35	K-35	2,00	±	0,92
6	K-6	1,00	±	0,32		36	K-36	1,10	±	0,45
7	K-7	1,00	±	0,46		37	K-37	1,30	±	0,66
8	K-8	1,45	±	0,69		38	K-38	1,70	±	0,73
9	K-9	1,00	±	0,32		39	K-39	1,32	±	0,48
10	K-10	0,95	±	0,39		40	K-40	1,24	±	0,44
11	K-11	1,15	±	0,49		41	K-41	1,30	±	0,47
12	K-12	1,70	±	0,80		42	K-42	2,25	±	0,85
13	K-13	1,80	±	0,70		43	K-43	1,10	±	0,31
14	K-14	1,00	±	0,00		44	K-44	1,10	±	0,45
15	K-15	1,40	±	0,50		45	K-45	1,60	±	0,60
16	K-16	1,58	±	0,69		46	K-46	3,15	±	0,88
17	K-17	1,20	±	0,52		47	K-47	2,60	±	0,75
18	K-18	1,35	±	0,49		48	K-48	1,45	±	0,60
19	K-19	2,40	±	0,88		49	K-49	1,75	±	0,44
20	K-20	1,30	±	0,80		50	K-50	1,35	±	0,67
21	K-21	1,55	±	0,51		51	K-51	1,15	±	0,67
22	K-22	2,15	±	0,88		52	K-52	1,30	±	0,47
23	K-23	1,25	±	0,44		53	K-53	1,60	±	0,75
24	K-24	1,95	±	0,94		54	K-54	1,30	±	0,47
25	K-25	1,00	±	0,00		55	K-55	1,35	±	0,59
26	K-26	0,70	±	0,47		56	K-56	1,70	±	0,57
27	K-27	1,30	±	0,47		57	K-57	1,05	±	0,22
28	K-28	1,75	±	0,85		58	K-58	1,65	±	0,59
29	K-29	0,85	±	0,59		59	K-59	1,95	±	0,51
30	K-30	1,75	±	0,64		60	K-60	1,65	±	0,49

Tabela 1.6. 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

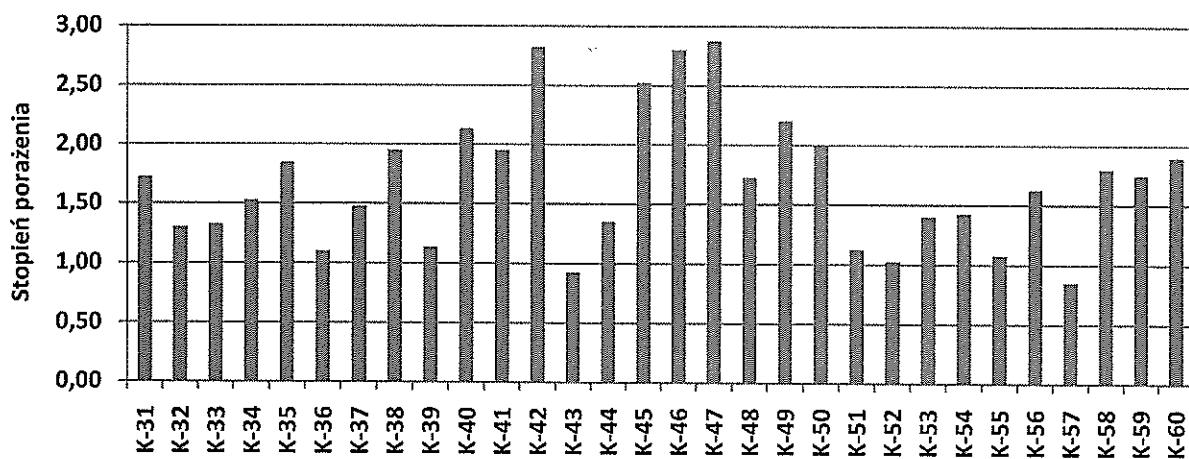
Lp	Genotyp	średni stopień porażenia					Lp	Genotyp	średni stopień porażenia			
1	S-1	1,83	±	1,34	r-u		31	S-31	1,25	±	0,63	d-k
2	S-2	1,16	±	0,64	b-h		32	S-32	1,69	±	0,69	n-u
3	S-3	1,78	±	1,12	a-u		33	S-33	1,03	±	0,58	b-e
4	S-4	1,35	±	0,62	e-n		34	S-34	1,35	±	0,53	e-n
5	S-5	1,30	±	0,76	e-l		35	S-35	1,48	±	0,72	g-p
6	S-6	1,30	±	0,66	d-l		36	S-36	1,46	±	0,72	g-p
7	S-7	0,95	±	0,71	b-d		37	S-37	1,68	±	0,83	m-t
8	S-8	1,68	±	0,89	m-t		38	S-38	1,60	±	0,84	l-t
9	S-9	1,23	±	0,63	c-j		39	S-39	1,23	±	0,77	c-i
10	S-10	1,33	±	0,53	e-m		40	S-40	1,03	±	0,66	b-e
11	S-11	0,83	±	0,68	a-b		41	S-41	1,55	±	0,75	i-s
12	S-12	1,50	±	0,99	h-r		42	S-42	1,54	±	0,76	i-s
13	S-13	1,15	±	0,92	b-g		43	S-43	1,80	±	0,88	p-u
14	S-14	1,18	±	0,64	c-h		44	S-44	1,25	±	0,95	d-k
15	S-15	1,05	±	0,76	b-f		45	S-45	1,90	±	1,34	t-u
16	S-16	1,08	±	0,66	b-f		46	S-46	1,15	±	0,70	b-g
17	S-17	1,00	±	0,73	b-e		47	S-47	1,38	±	0,63	f-n
18	S-18	1,10	±	0,59	b-f		48	S-48	1,23	±	0,48	c-i
19	S-19	1,33	±	0,70	e-m		49	S-49	1,25	±	0,63	d-k
20	S-20	0,54	±	0,51	a		50	S-50	1,55	±	0,93	i-s
21	S-21	1,25	±	0,71	d-k		51	S-51	1,58	±	0,96	j-t
22	S-22	0,90	±	0,50	b-c		52	S-52	1,26	±	0,55	d-l
23	S-23	1,68	±	0,64	m-u		53	S-53	1,18	±	0,38	c-h
24	S-24	1,59	±	0,82	k-t		54	S-54	1,45	±	0,81	g-o
25	S-25	1,68	±	0,80	m-t		55	S-55	1,68	±	0,76	m-t
26	S-26	1,55	±	0,64	i-s		56	S-56	2,03	±	1,17	u-w
27	S-27	1,03	±	0,72	b-e		57	S-57	1,85	±	0,58	s-u
28	S-28	1,48	±	0,68	g-p		58	S-58	1,49	±	0,51	g-r
29	S-29	1,17	±	0,77	b-h		59	S-59	1,15	±	0,74	b-g
30	S-30	2,35	±	1,46	w		60	S-60	1,77	±	1,01	o-u

Tabela 1.7. 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

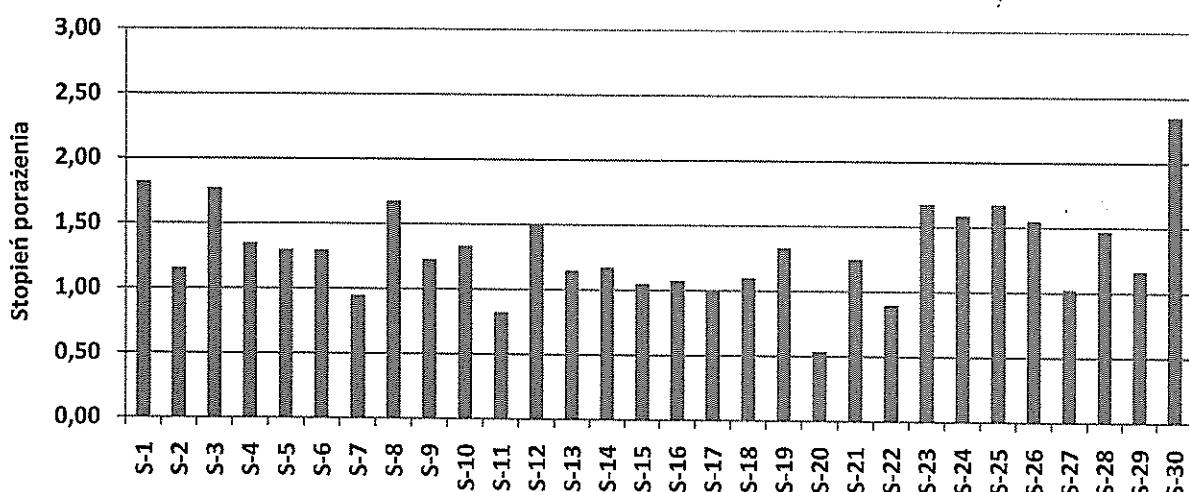
Lp	Genotyp	średni stopień porażenia				Lp	Genotyp	średni stopień porażenia					
1	K-1	1,03	±	0,48	a-e			31	K-31	1,73	±	0,60	p-x
2	K-2	1,53	±	0,74	i-t			32	K-32	1,30	±	0,61	e-m
3	K-3	2,28	±	1,20	aa-ab			33	K-33	1,33	±	0,62	e-n
4	K-4	2,15	±	0,98	y-aa			34	K-34	1,53	±	0,64	i-s
5	K-5	1,16	±	0,37	c-j			35	K-35	1,85	±	0,87	t-y
6	K-6	1,33	±	0,69	e-n			36	K-36	1,10	±	0,38	a-h
7	K-7	1,13	±	0,47	b-i			37	K-37	1,48	±	0,72	j-r
8	K-8	1,38	±	0,63	g-o			38	K-38	1,95	±	0,75	w-z
9	K-9	1,08	±	0,43	a-g			39	K-39	1,14	±	0,48	b-i
10	K-10	1,05	±	0,45	a-f			40	K-40	2,14	±	1,00	y-aa
11	K-11	1,15	±	0,43	c-i			41	K-41	1,95	±	1,01	w-z
12	K-12	1,65	±	0,80	o-w			42	K-42	2,83	±	0,90	ac-ad
13	K-13	1,85	±	0,77	t-y			43	K-43	0,93	±	0,42	a-d
14	K-14	1,50	±	0,93	k-s			44	K-44	1,35	±	0,62	f-o
15	K-15	1,20	±	0,52	d-k			45	K-45	2,53	±	1,09	ab-ac
16	K-16	1,72	±	0,86	p-x			46	K-46	2,80	±	0,82	ac-ad
17	K-17	1,25	±	0,49	e-l			47	K-47	2,88	±	0,82	ad
18	K-18	1,25	±	0,54	e-l			48	K-48	1,73	±	0,88	p-x
19	K-19	2,18	±	0,81	z-aa			49	K-49	2,21	±	0,66	z-aa
20	K-20	2,03	±	1,12	x-aa			50	K-50	2,00	±	1,01	x-aa
21	K-21	1,44	±	0,60	i-r			51	K-51	1,13	±	0,56	b-i
22	K-22	1,72	±	0,86	p-x			52	K-52	1,03	±	0,53	a-e
23	K-23	0,88	±	0,61	a-c			53	K-53	1,40	±	0,67	h-o
24	K-24	1,80	±	0,94	s-x			54	K-54	1,43	±	0,64	i-p
25	K-25	1,20	±	0,41	d-k			55	K-55	1,08	±	0,69	a-g
26	K-26	0,80	±	0,46	a			56	K-56	1,63	±	0,59	n-u
27	K-27	1,60	±	0,78	m-u			57	K-57	0,85	±	0,53	a-c
28	K-28	1,62	±	0,75	m-u			58	K-58	1,80	±	0,65	s-x
29	K-29	0,83	±	0,55	a-b			59	K-59	1,75	±	0,59	r-x
30	K-30	1,43	±	0,59	i-p			60	K-60	1,90	±	0,71	u-z



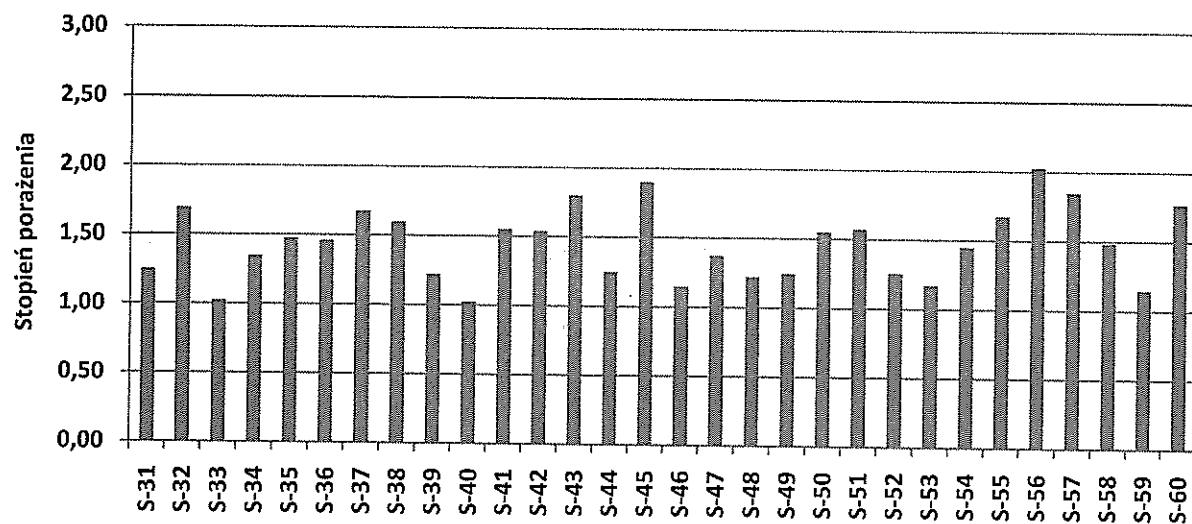
Rycina 1.1. Średni stopień porażenia genotypów kukurydzy (formy flint) hodowli MHR
Kobierzyce przez *Fusarium temperatum*



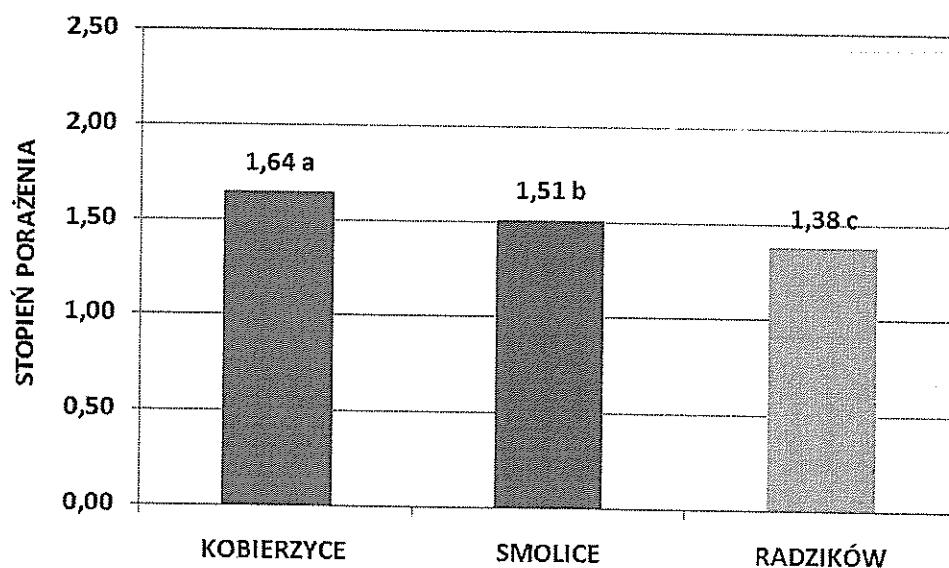
Rycina 1.2. Średni stopień porażenia genotypów kukurydzy (formy dent) hodowli MHR
Kobierzyce przez *Fusarium temperatum*



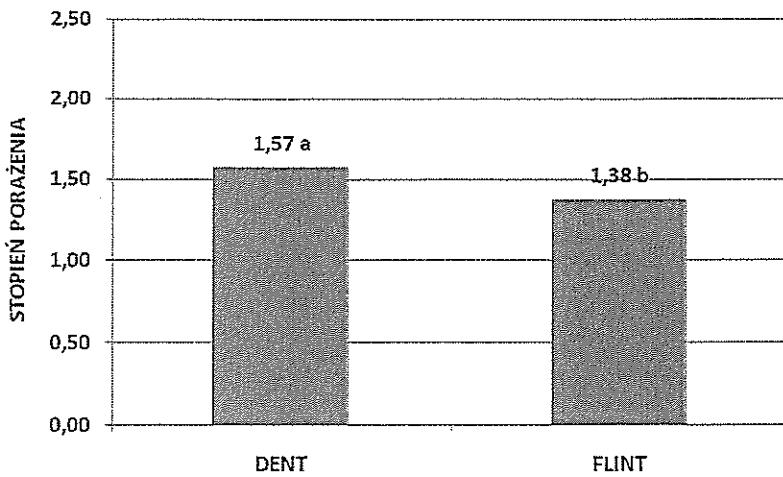
Rycina 1.3. Średni stopień porażenia genotypów kukurydzy (formy flint) hodowli HRS Smolice
przez *Fusarium temperatum*



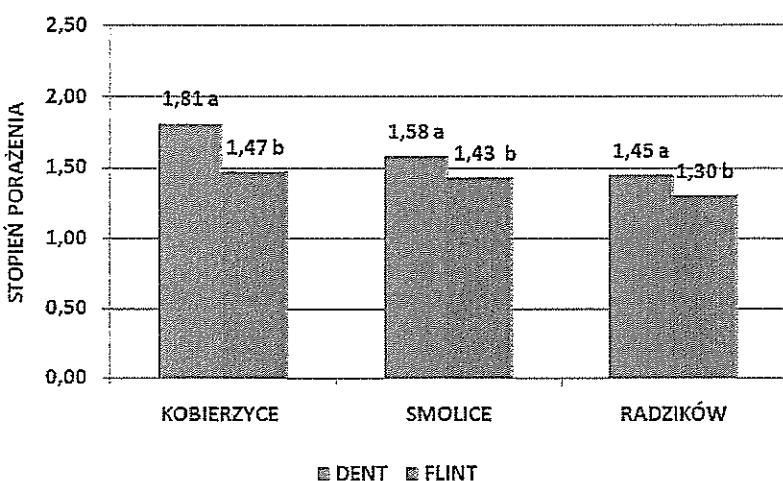
Rycina 1.4. Średni stopień porażenia genotypów kukurydzy (formy dent) hodowli HRS Smolice przez *Fusarium temperatum*



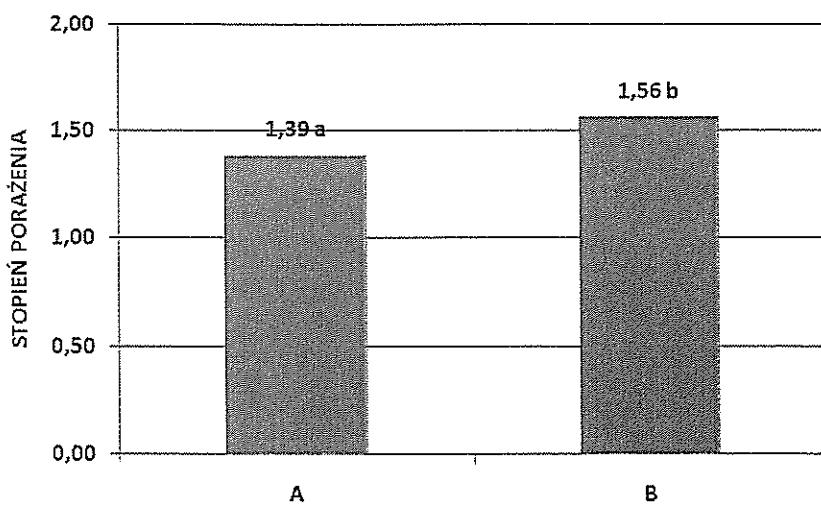
Rycina 1.5. Średni stopień porażenia badanych genotypów kukurydzy przez *Fusarium temperatum* w trzech lokalizacjach



Rycina 1.6. Średni stopień porażenia form dent i flint badanych genotypów kukurydzy przez *Fusarium temperatum*



Rycina 1.7. Porównanie stopnia porażenia form dent i flint kukurydzy przez *Fusarium temperatum* w trzech lokalizacjach



Rycina 1.8. Średni stopień stopnia porażenia kukurydzy przez *Fusarium temperatum* testowanych w Smolicach i Radzikowie (A) oraz Kobierzycach i Radzikowie (B)

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

Cel tematu

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

Materiał i metody

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

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

Analiza mykotoksyn

Z uwagi na występującą dużą zmienność w doświadczeniach polowych układ doświadczenia w 2018 roku odpowiadał schematowi badań z poprzednich lat (2015-2017).

Po osiągnięciu dojrzałości zbiorczej kolby kukurydzy były transportowane do laboratorium a następnie dosuszane i młócione. 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).

Przeprowadzono analizy wszystkich prób (240), wybranych z ziarniaków porażonych z wszystkich (120) genotypów kukurydzy, z każdej (2) lokalizacji badań.

Badania Scauflaire i in. (2012) wskazują, że *F. temperatum* posiada zdolność biosyntezy bowerycyyny. Dane na temat możliwości biosyntezы innych mykotoksyn są niejednoznaczne, wskazują na jakościową zmienność w populacji gatunku. Procedury analizy mykotoksyn oraz ergosterolu były zgodne ze stosowaną metodą 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 metodą przedstawioną w pracy Younga (1995). Metoda ta przewiduje ekstrakcję ergosterolu w metanolowym roztworze wodorotlenku sodowego w warunkach promieniowania mikrofalowego. Zmydlony ergosterol zbojętnia 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 amylozy/amylopektyну

Analiza zawartości amylopektyну/amylozy w skrobi przeprowadzano wykorzystując do tego celu „Megazyme assay kit”. W teście tym badaną próbki skrobi zawiesza się w sulfotlenku dwumetylu (DMSO). Z roztworu usuwa się następnie lipidy poprzez strącenie skrobi etanolem. Wytrąconą skrobię zawiesza się 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).

Scauflaire J., Gourgue M., Callebaut A., Munaut F. 2012. *Fusarium temperatum*, a mycotoxin-producing pathogen of maize. Eur J Plant Pathol 133: 911–922.

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.

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- PIB, 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 24,59% (dla genotypu K-23) do 41,13% w przypadku genotypu o numerze kodowym K-27, natomiast w przypadku ziarniaków typu dent od 22,23% (K-35) do 40,43% (K-43).
- 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. Zakres zmienności badanej cechy dla form kukurydzy typu flint wahał się od 25,57% (S-30) do 35,63% (S-7), a w przypadku form kukurydzy typu dent od 26,90% (S-31) do 34,41% (S-59).
- 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 28,40% (dla genotypu K-17) do 39,07% w przypadku genotypu o numerze kodowym K-12, natomiast w przypadku ziarniaków typu dent od 25,46% (genotyp K-31) do 36,30% (genotyp K-52).
- 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 28,18% (dla genotypu S-14) do

34,94% w przypadku genotypu o numerze kodowym S-7, natomiast w przypadku ziarniaków typu dent od 25,41% (genotyp S-41) do 38,91% (genotyp S - 55).

Udział amylozy w strukturze skrobi ziarniaków form dent i flint badanych genotypów kukurydzy dla poszczególnych hodowli przedstawia **rycina 2.1**.

- Udział amylozy w strukturze skrobi ziarniaków form dent i flint, materiałów pochodzących z Hodowli Smolice wynosił 30,91% i 31,53%, różnił się znacznie i różnica ta była statystycznie istotna ($F=13,54$ $p=0,0002$).
- Udział amylozy w strukturze skrobi ziarniaków form dent i flint, materiałów pochodzących z Hodowli MHR Kobierzyce wynosił 30,57% i 31,39%, różnił się znacznie i różnica ta była statystycznie istotna ($F=11,36$ $p=0,0007$).

Udział amylozy w strukturze skrobi ziarniaków form dent i flint badanych genotypów kukurydzy w poszczególnych lokalizacjach przedstawia **rycina 2.2**. Udział amylozy w ziarniakach form flint kukurydzy był istotnie wyższy niż dent. Zależność tą zanotowano w przypadku dwóch lokalizacji doświadczenia tj. Smolice i Radzików. Udział amylozy w ziarniakach form dent i flint wynosił odpowiednio w Smolicach 29,99% i 31,76% ($F=84,03$ $p=0,0000$), w Radzikowie 31,47% i 32,15% ($F=13,33$ $p=0,0003$). Natomiast udział amylozy w ziarniakach form dent i flint w Kobierzycach wynosił odpowiednio 30,05% i 29,77% ($F=0,56$ $p=0,4539$), tym samym różnica ta nie była istotna statystycznie.

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

Lp	Numer	Miejsce	Typ	Amyloza		
1	K-1	Kobierzyce	Flint	32,75	±	0,39
2	K-2	Kobierzyce	Flint	32,27	±	0,91
3	K-3	Kobierzyce	Flint	25,30	±	0,44
4	K-4	Kobierzyce	Flint	34,24	±	0,39
5	K-5	Kobierzyce	Flint	29,16	±	0,47
6	K-6	Kobierzyce	Flint	31,09	±	0,32
7	K-7	Kobierzyce	Flint	27,91	±	0,20
8	K-8	Kobierzyce	Flint	32,06	±	0,61
9	K-9	Kobierzyce	Flint	28,71	±	0,43
10	K-10	Kobierzyce	Flint	34,10	±	0,36
11	K-11	Kobierzyce	Flint	34,68	±	0,75
12	K-12	Kobierzyce	Flint	25,70	±	0,53
13	K-13	Kobierzyce	Flint	35,34	±	0,52
14	K-14	Kobierzyce	Flint	27,22	±	0,55
15	K-15	Kobierzyce	Flint	28,90	±	0,35
16	K-16	Kobierzyce	Flint	25,19	±	0,54
17	K-17	Kobierzyce	Flint	35,67	±	0,53
18	K-18	Kobierzyce	Flint	29,58	±	0,30
19	K-19	Kobierzyce	Flint	27,37	±	0,50
20	K-20	Kobierzyce	Flint	27,50	±	0,37
21	K-21	Kobierzyce	Flint	27,03	±	0,89
22	K-22	Kobierzyce	Flint	25,15	±	0,32
23	K-23	Kobierzyce	Flint	24,59	±	0,71
24	K-24	Kobierzyce	Flint	25,33	±	0,62
25	K-25	Kobierzyce	Flint	30,09	±	0,77
26	K-26	Kobierzyce	Flint	28,55	±	0,46
27	K-27	Kobierzyce	Flint	41,13	±	0,98
28	K-28	Kobierzyce	Flint	29,73	±	0,66
29	K-29	Kobierzyce	Flint	27,39	±	0,62
30	K-30	Kobierzyce	Flint	29,28	±	0,73

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

Lp	Numer	Miejsce	Typ	Amyloza			
1	K-31	Kobierzyce	Dent	28,63	±	0,57	k-n
2	K-32	Kobierzyce	Dent	27,55	±	0,38	f-h
3	K-33	Kobierzyce	Dent	28,04	±	0,28	i-k
4	K-34	Kobierzyce	Dent	30,76	±	0,84	s
5	K-35	Kobierzyce	Dent	22,23	±	0,27	a
6	K-36	Kobierzyce	Dent	28,43	±	0,41	j-l
7	K-37	Kobierzyce	Dent	29,59	±	0,33	p-r
8	K-38	Kobierzyce	Dent	27,81	±	0,17	g-i
9	K-39	Kobierzyce	Dent	27,57	±	0,42	f-h
10	K-40	Kobierzyce	Dent	28,58	±	1,65	k-n
11	K-41	Kobierzyce	Dent	25,26	±	1,10	c-d
12	K-42	Kobierzyce	Dent	27,33	±	0,31	f-h
13	K-43	Kobierzyce	Dent	40,43	±	0,82	ad
14	K-44	Kobierzyce	Dent	32,19	±	0,43	t-u
15	K-45	Kobierzyce	Dent	27,84	±	0,31	h-j
16	K-46	Kobierzyce	Dent	25,17	±	0,56	b-d
17	K-47	Kobierzyce	Dent	25,57	±	0,33	d
18	K-48	Kobierzyce	Dent	33,45	±	1,41	w
19	K-49	Kobierzyce	Dent	35,05	±	0,48	y-z
20	K-50	Kobierzyce	Dent	38,52	±	0,37	ac
21	K-51	Kobierzyce	Dent	27,23	±	0,23	f-g
22	K-52	Kobierzyce	Dent	24,81	±	0,46	b-c
23	K-53	Kobierzyce	Dent	35,76	±	0,49	aa-ab
24	K-54	Kobierzyce	Dent	35,38	±	0,75	z-ab
25	K-55	Kobierzyce	Dent	28,88	±	0,38	l-o
26	K-56	Kobierzyce	Dent	35,48	±	0,64	z-ab
27	K-57	Kobierzyce	Dent	26,62	±	0,45	e
28	K-58	Kobierzyce	Dent	29,14	±	0,42	m-p
29	K-59	Kobierzyce	Dent	35,97	±	0,59	ab
30	K-60	Kobierzyce	Dent	32,26	±	0,61	t-u

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

Lp	Numer	Miejsce	Typ	Amyloza			
				31,21	±	0,45	s-w
1	S-1	Smolice	Flint	31,21	±	0,45	s-w
2	S-2	Smolice	Flint	34,74	±	0,50	ae
3	S-3	Smolice	Flint	34,74	±	0,54	ae
4	S-4	Smolice	Flint	33,19	±	1,19	ac-ad
5	S-5	Smolice	Flint	32,94	±	0,86	ab-ac
6	S-6	Smolice	Flint	31,70	±	0,40	w-y
7	S-7	Smolice	Flint	35,63	±	0,50	af
8	S-8	Smolice	Flint	31,04	±	0,24	r-t
9	S-9	Smolice	Flint	32,85	±	0,15	aa-ac
10	S-10	Smolice	Flint	33,63	±	0,77	ad
11	S-11	Smolice	Flint	32,28	±	0,59	y-aa
12	S-12	Smolice	Flint	33,67	±	1,30	ad
13	S-13	Smolice	Flint	31,33	±	0,38	s-w
14	S-14	Smolice	Flint	32,52	±	0,28	z-ab
15	S-15	Smolice	Flint	32,25	±	0,41	y-aa
16	S-16	Smolice	Flint	31,05	±	0,49	r-u
17	S-17	Smolice	Flint	31,67	±	0,55	u-y
18	S-18	Smolice	Flint	31,58	±	0,55	s-x
19	S-19	Smolice	Flint	27,48	±	0,59	b-c
20	S-20	Smolice	Flint	34,43	±	0,55	ae
21	S-21	Smolice	Flint	31,36	±	0,44	s-w
22	S-22	Smolice	Flint	30,27	±	1,91	m-o
23	S-23	Smolice	Flint	32,14	±	0,48	x-z
24	S-24	Smolice	Flint	33,33	±	0,65	ac-ad
25	S-25	Smolice	Flint	29,85	±	0,12	l-n
26	S-26	Smolice	Flint	28,38	±	0,22	f-g
27	S-27	Smolice	Flint	30,55	±	0,40	o-r
28	S-28	Smolice	Flint	29,06	±	0,39	h-j
29	S-29	Smolice	Flint	32,35	±	0,58	z-ab
30	S-30	Smolice	Flint	25,57	±	0,80	a

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

Lp	Numer	Miejsce	Typ	Amyloza			
1	S-31	Smolice	Dent	26,90	±	0,51	b
2	S-32	Smolice	Dent	30,00	±	0,67	l-o
3	S-33	Smolice	Dent	30,98	±	0,39	p-s
4	S-34	Smolice	Dent	28,51	±	0,49	g-h
5	S-35	Smolice	Dent	31,63	±	0,59	t-x
6	S-36	Smolice	Dent	28,29	±	0,35	e-g
7	S-37	Smolice	Dent	28,63	±	0,39	g-i
8	S-38	Smolice	Dent	27,77	±	0,48	c-f
9	S-39	Smolice	Dent	29,18	±	0,73	i-k
10	S-40	Smolice	Dent	32,42	±	0,39	z-ab
11	S-41	Smolice	Dent	30,38	±	0,32	n-p
12	S-42	Smolice	Dent	32,11	±	1,36	x-z
13	S-43	Smolice	Dent	27,74	±	0,86	c-e
14	S-44	Smolice	Dent	29,63	±	0,52	j-l
15	S-45	Smolice	Dent	29,85	±	0,23	l-n
16	S-46	Smolice	Dent	28,13	±	0,21	d-g
17	S-47	Smolice	Dent	31,62	±	0,31	t-x
18	S-48	Smolice	Dent	33,45	±	0,57	ac-ad
19	S-49	Smolice	Dent	30,99	±	0,55	p-s
20	S-50	Smolice	Dent	31,30	±	0,42	s-w
21	S-51	Smolice	Dent	27,55	±	0,54	c-d
22	S-52	Smolice	Dent	29,08	±	1,05	h-k
23	S-53	Smolice	Dent	28,55	±	0,20	g-h
24	S-54	Smolice	Dent	29,70	±	0,40	k-m
25	S-55	Smolice	Dent	32,08	±	0,46	x-z
26	S-56	Smolice	Dent	27,85	±	0,58	c-f
27	S-57	Smolice	Dent	29,09	±	0,52	h-k
28	S-58	Smolice	Dent	29,21	±	0,58	i-k
29	S-59	Smolice	Dent	34,41	±	0,39	ae
30	S-60	Smolice	Dent	32,56	±	0,59	z-ab

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

Lp	Numer	Miejsce	Typ	Amyloza			
1	K-1	Radzików	Flint	32,25	±	0,64	r-w
2	K-2	Radzików	Flint	36,58	±	0,35	ai
3	K-3	Radzików	Flint	32,51	±	0,44	t-y
4	K-4	Radzików	Flint	34,19	±	0,51	ab-ac
5	K-5	Radzików	Flint	32,94	±	0,40	u-z
6	K-6	Radzików	Flint	34,55	±	0,49	ac-ae
7	K-7	Radzików	Flint	32,43	±	0,57	s-y
8	K-8	Radzików	Flint	32,26	±	0,42	r-w
9	K-9	Radzików	Flint	30,56	±	0,44	k-m
10	K-10	Radzików	Flint	30,98	±	0,39	l-p
11	K-11	Radzików	Flint	36,59	±	0,65	ai
12	K-12	Radzików	Flint	39,07	±	1,03	ak
13	K-13	Radzików	Flint	35,90	±	1,11	ag-ai
14	K-14	Radzików	Flint	37,63	±	0,89	aj
15	K-15	Radzików	Flint	34,85	±	0,75	ac-af
16	K-16	Radzików	Flint	31,73	±	0,58	p-t
17	K-17	Radzików	Flint	28,40	±	0,53	d-e
18	K-18	Radzików	Flint	31,49	±	1,65	o-r
19	K-19	Radzików	Flint	36,59	±	0,79	ai
20	K-20	Radzików	Flint	32,46	±	1,39	s-y
21	K-21	Radzików	Flint	30,69	±	0,37	k-o
22	K-22	Radzików	Flint	32,14	±	1,08	r-u
23	K-23	Radzików	Flint	33,98	±	0,73	aa-ac
24	K-24	Radzików	Flint	30,47	±	0,78	j-m
25	K-25	Radzików	Flint	29,98	±	0,50	h-k
26	K-26	Radzików	Flint	30,72	±	0,40	k-o
27	K-27	Radzików	Flint	35,54	±	0,76	af-ah
28	K-28	Radzików	Flint	33,13	±	0,72	x-aa
29	K-29	Radzików	Flint	29,24	±	0,22	e-h
30	K-30	Radzików	Flint	30,64	±	0,66	k-o

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

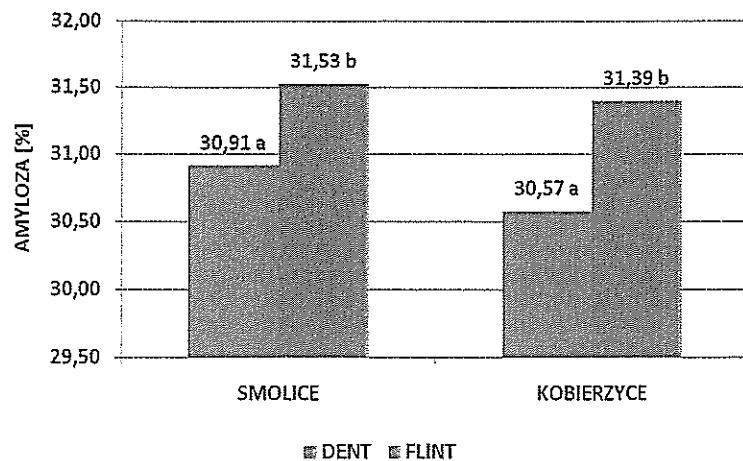
Lp	Numer	Miejsce	Typ	Amyloza			
1	K-31	Radzików	Dent	25,46	±	0,31	a
2	K-32	Radzików	Dent	31,45	±	0,49	n-r
3	K-33	Radzików	Dent	31,14	±	0,76	m-p
4	K-34	Radzików	Dent	30,13	±	0,32	i-l
5	K-35	Radzików	Dent	30,48	±	0,51	j-m
6	K-36	Radzików	Dent	31,60	±	0,53	p-s
7	K-37	Radzików	Dent	26,68	±	1,08	b
8	K-38	Radzików	Dent	26,89	±	2,00	b
9	K-39	Radzików	Dent	27,10	±	0,90	b-c
10	K-40	Radzików	Dent	29,66	±	0,88	g-j
11	K-41	Radzików	Dent	35,54	±	2,19	af-ah
12	K-42	Radzików	Dent	32,27	±	0,93	r-x
13	K-43	Radzików	Dent	30,62	±	0,56	k-n
14	K-44	Radzików	Dent	35,14	±	1,38	ad-ag
15	K-45	Radzików	Dent	33,04	±	2,11	w-z
16	K-46	Radzików	Dent	28,78	±	0,42	d-f
17	K-47	Radzików	Dent	33,20	±	0,60	y-aa
18	K-48	Radzików	Dent	32,80	±	0,82	u-z
19	K-49	Radzików	Dent	34,46	±	0,89	ac-ad
20	K-50	Radzików	Dent	27,93	±	0,99	c-d
21	K-51	Radzików	Dent	33,48	±	1,75	z-ab
22	K-52	Radzików	Dent	36,30	±	1,08	ah-ai
23	K-53	Radzików	Dent	35,34	±	1,02	ae-ag
24	K-54	Radzików	Dent	32,53	±	0,46	t-y
25	K-55	Radzików	Dent	27,20	±	0,36	b-c
26	K-56	Radzików	Dent	29,57	±	0,52	f-i
27	K-57	Radzików	Dent	28,84	±	0,46	e-g
28	K-58	Radzików	Dent	33,04	±	0,45	w-z
29	K-59	Radzików	Dent	29,01	±	0,42	e-g
30	K-60	Radzików	Dent	33,06	±	0,53	w-z

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

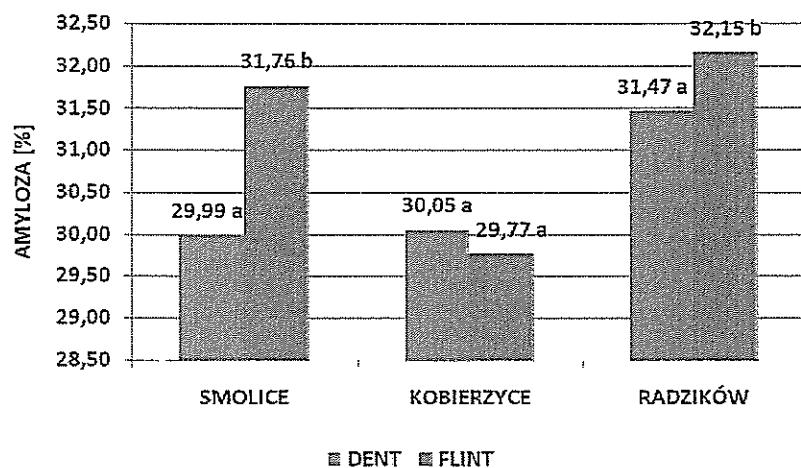
Lp	Numer	Miejsce	Typ	Amyloza		
1	S-1	Radzików	Flint	30,50	±	0,67 m
2	S-2	Radzików	Flint	29,50	±	0,40 g-k
3	S-3	Radzików	Flint	32,20	±	0,62 s-w
4	S-4	Radzików	Flint	28,95	±	0,45 e-g
5	S-5	Radzików	Flint	30,43	±	0,53 l-m
6	S-6	Radzików	Flint	34,20	±	0,83 ab-ad
7	S-7	Radzików	Flint	34,94	±	0,25 af
8	S-8	Radzików	Flint	31,17	±	0,39 n-o
9	S-9	Radzików	Flint	32,05	±	0,45 r-u
10	S-10	Radzików	Flint	31,29	±	0,60 n-p
11	S-11	Radzików	Flint	30,45	±	0,43 m
12	S-12	Radzików	Flint	28,42	±	0,87 c-e
13	S-13	Radzików	Flint	29,30	±	0,49 f-j
14	S-14	Radzików	Flint	28,18	±	0,55 c
15	S-15	Radzików	Flint	32,59	±	0,64 u-x
16	S-16	Radzików	Flint	33,47	±	0,76 z-aa
17	S-17	Radzików	Flint	32,91	±	0,45 x-y
18	S-18	Radzików	Flint	29,44	±	0,41 f-k
19	S-19	Radzików	Flint	29,88	±	0,33 k-l
20	S-20	Radzików	Flint	34,68	±	0,63 ad-af
21	S-21	Radzików	Flint	34,57	±	0,27 ad-af
22	S-22	Radzików	Flint	29,54	±	0,53 h-k
23	S-23	Radzików	Flint	34,78	±	0,34 ae-af
24	S-24	Radzików	Flint	29,36	±	0,58 f-k
25	S-25	Radzików	Flint	31,80	±	0,40 p-s
26	S-26	Radzików	Flint	32,71	±	0,56 w-y
27	S-27	Radzików	Flint	28,24	±	0,26 c
28	S-28	Radzików	Flint	31,86	±	0,17 r-s
29	S-29	Radzików	Flint	31,78	±	0,31 p-s
30	S-30	Radzików	Flint	29,58	±	0,72 h-k

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

Lp	Numer	Miejsce	Typ	Amyloza			
1	S-31	Radzików	Dent	32,50	±	0,28	t-x
2	S-32	Radzików	Dent	30,77	±	0,42	m-n
3	S-33	Radzików	Dent	37,17	±	0,84	a-h
4	S-34	Radzików	Dent	30,45	±	0,34	m
5	S-35	Radzików	Dent	34,28	±	0,45	ac-ae
6	S-36	Radzików	Dent	37,94	±	0,86	ai
7	S-37	Radzików	Dent	34,01	±	0,53	aa-ac
8	S-38	Radzików	Dent	29,82	±	0,59	j-k
9	S-39	Radzików	Dent	31,99	±	0,33	r-t
10	S-40	Radzików	Dent	30,57	±	0,37	m
11	S-41	Radzików	Dent	25,41	±	0,28	a
12	S-42	Radzików	Dent	28,91	±	0,66	d-f
13	S-43	Radzików	Dent	30,81	±	0,31	m-n
14	S-44	Radzików	Dent	36,45	±	0,67	ag
15	S-45	Radzików	Dent	29,16	±	0,63	f-i
16	S-46	Radzików	Dent	29,04	±	0,52	f-h
17	S-47	Radzików	Dent	32,65	±	0,47	w-x
18	S-48	Radzików	Dent	34,57	±	0,55	ad-af
19	S-49	Radzików	Dent	33,69	±	0,38	a-ab
20	S-50	Radzików	Dent	31,92	±	0,82	r-s
21	S-51	Radzików	Dent	31,80	±	0,86	p-s
22	S-52	Radzików	Dent	31,64	±	0,60	o-r
23	S-53	Radzików	Dent	25,66	±	0,34	a
24	S-54	Radzików	Dent	34,83	±	0,68	ae-af
25	S-55	Radzików	Dent	38,91	±	1,35	aj
26	S-56	Radzików	Dent	28,39	±	0,38	c-d
27	S-57	Radzików	Dent	26,25	±	0,51	b
28	S-58	Radzików	Dent	29,65	±	0,53	i-k
29	S-59	Radzików	Dent	32,73	±	0,68	w-y
30	S-60	Radzików	Dent	33,22	±	0,53	y-z



Rycina 2.1. Udział amylozy w strukturze ziarniaków form dent i flint badanych genotypów kukurydzy (Hodowla Smolice i Hodowla Kobierzyce).



Rycina 2.2. Udział amylozy w strukturze ziarniaków form dent i flint badanych genotypów kukurydzy w trzech lokalizacjach.

Analizę zawartości ergosterolu oraz bowerycyny - metabolitów *F. temperatum* przeprowadzono w ziarniakach kukurydzy, 60 genotypów HRS Smolice i 60 genotypów MHR Kobierzyce, 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 - PIB 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 tabela 2.9 i tabela 2.10.

W materiałach hodowli Smolice średnia zawartość bowerycyny (BEA):

- w próbach kukurydzy typu dent pochodzących z doświadczenia zrealizowanego w:
 - Smolicach wynosiła 3,3 ppm i wahała się od 1,4 do 9,2 ppm
 - Radzikowie wynosiła 6,5 ppm i wahała się od 1,6 do 13,3 ppm
- w próbach kukurydzy typu flint pochodzących z doświadczenia zrealizowanego w:
 - Smolicach wynosiła 6,3 ppm i wahała się od 1,5 do 34,1 ppm
 - Radzikowie wynosiła 7,6 ppm i wahała się od 1,2 do 65,0 ppm

W materiałach hodowli Kobierzyce średnia zawartość BEA:

- w próbach kukurydzy typu dent pochodzących z doświadczenia zrealizowanego w:
 - Kobierzycach wynosiła 7,7 ppm i wahała się od 1,7 do 26,8 ppm
 - Radzikowie wynosiła 5,2 ppm i wahała się od 1,8 do 24,1 ppm
- w próbach kukurydzy typu flint pochodzących z doświadczenia zrealizowanego w:
 - Kobierzycach wynosiła 6,4 ppm i wahała się od 1,5 do 23,5 ppm
 - Radzikowie wynosiła 5,5 ppm i wahała się od 1,8 do 29,2 ppm.

W materiałach hodowli Smolice średnia zawartość ergosterolu (ERG):

- w próbach kukurydzy typu dent pochodzących z doświadczenia zrealizowanego w:
 - Smolicach wynosiła 10,9 ppm i wahała się od 1,5 do 28,7 ppm
 - Radzikowie wynosiła 11,2 ppm i wahała się od 3,3 do 28,6 ppm
- w próbach kukurydzy typu flint pochodzących z doświadczenia zrealizowanego w:
 - Smolicach wynosiła 19,6 ppm i wahała się od 2,1 do 103,9 ppm
 - Radzikowie wynosiła 9,7 ppm i wahała się od 3,2 do 25,9 ppm

W materiałach hodowli Kobierzyce średnia zawartość ergosterolu:

- w próbach kukurydzy typu dent pochodzących z doświadczenia zrealizowanego w:
 - Kobierzycach wynosiła 25,8 ppm i wahała się od 3,5 do 116,8 ppm
 - Radzikowie wynosiła 11,4 ppm i wahała się od 2,1 do 35,8 ppm
- w próbach kukurydzy typu flint pochodzących z doświadczenia zrealizowanego w:
 - Kobierzycach wynosiła 23,0 ppm i wahała się od 4,0 do 62,5 ppm
 - Radzikowie wynosiła 12,3 ppm i wahała się od 2,2 do 59,7 ppm.

Tabela 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	Doświadczenie Smolice		Doświadczenie Radzików	
	Genotyp	ERG [ppm]	BEA [ppm]	ERG [ppm]	BEA [ppm]
1	S-1	25,3	14,3	9,9	5,1
2	S-2	11,8	2,4	5,8	1,3
3	S-3	48,1	11,8	8,5	8,4
4	S-4	19,7	4,9	8,8	4,2
5	S-5	15,8	5,7	12,2	14,0
6	S-6	11,4	3,4	11,9	4,8
7	S-7	6,7	2,3	4,4	4,6
8	S-8	19,9	5,8	25,7	65,0
9	S-9	3,4	1,8	9,0	3,2
10	S-10	4,9	2,1	6,1	4,0
11	S-11	16,8	3,5	3,5	2,2
12	S-12	54,9	15,9	6,4	1,7
13	S-13	18,7	6,7	25,9	18,5
14	S-14	9,2	2,6	6,0	3,1
15	S-15	16,8	4,5	8,8	1,7
16	S-16	14,5	3,2	6,9	2,5
17	S-17	2,6	1,5	6,2	1,2
18	S-18	5,3	1,8	5,0	1,4
19	S-19	20,7	7,1	8,0	3,7
20	S-20	3,7	--	3,2	--
21	S-21	15,7	9,2	5,1	1,9
22	S-22	9,5	3,1	3,7	1,3
23	S-23	22,9	5,1	13,8	10,3
24	S-24	19,4	6,8	11,4	7,2
25	S-25	24,9	4,1	18,5	10,0
26	S-26	18,9	4,8	14,6	8,1
27	S-27	4,9	2,3	6,9	2,1
28	S-28	34,1	5,1	7,1	3,2
29	S-29	2,1	--	12,6	13,6
30	S-30	103,9	34,1	14,3	11,7

- nie stwierdzono

Tabela 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	Doświadczenie Smolice		Doświadczenie Radzików	
	Genotyp	ERG [ppm]	BEA [ppm]	ERG [ppm]	BEA [ppm]
31	S-31	1,5	--	19,9	3,1
32	S-32	5,8	1,8	14,5	10,3
33	S-33	7,4	1,9	3,8	--
34	S-34	6,7	2,4	3,3	--
35	S-35	4,5	2,9	7,9	3,6
36	S-36	5,5	1,9	6,0	--
37	S-37	13,7	5,6	5,5	5,4
38	S-38	17,4	3,3	28,6	7,3
39	S-39	15,4	4,1	5,2	2,1
40	S-40	11,4	3,1	7,8	4,7
41	S-41	17,2	3,7	10,1	4,8
42	S-42	28,7	5,5	9,2	5,1
43	S-43	11,2	4,2	10,1	7,8
44	S-44	22,7	6,9	5,5	2,2
45	S-45	24,9	9,2	4,2	1,8
46	S-46	5,4	1,6	8,5	4,4
47	S-47	4,8	1,9	13,3	7,9
48	S-48	7,1	1,6	4,7	2,3
49	S-49	8,9	2,5	4,2	1,6
50	S-50	8,8	2,3	10,6	12,4
51	S-51	4,7	1,8	21,4	11,2
52	S-52	3,7	1,4	20,3	7,4
53	S-53	6,3	1,5	16,2	6,9
54	S-54	6,7	2,6	6,4	4,3
55	S-55	5,8	2,1	14,0	13,3
56	S-56	8,7	1,9	16,3	12,8
57	S-57	15,4	4,9	16,8	11,2
58	S-58	9,8	3,2	12,2	5,6
59	S-59	9,7	2,4	13,0	7,4
60	S-60	25,7	6,1	17,0	8,2

- nie stwierdzono

Tabela 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.	Hodowla Kobierzyce	Doświadczenie Kobierzyce		Doświadczenie Radzików	
		Genotyp	ERG [ppm]	BEA [ppm]	ERG [ppm]
1	K-1		8,3	3,1	9,4
2	K-2		46,7	8,2	8,4
3	K-3		45,5	15,4	8,7
4	K-4		28,2	4,4	59,7
5	K-5		6,0	--	12,5
6	K-6		29,6	13,2	15,4
7	K-7		15,0	5,8	16,2
8	K-8		11,4	4,9	10,4
9	K-9		26,0	5,7	6,9
10	K-10		15,7	3,4	8,9
11	K-11		18,5	3,0	13,9
12	K-12		40,7	23,5	11,4
13	K-13		28,0	8,5	8,7
14	K-14		60,8	7,7	6,9
15	K-15		11,2	3,0	10,8
16	K-16		26,7	5,5	9,7
17	K-17		13,4	2,1	6,5
18	K-18		13,1	3,2	15,7
19	K-19		18,6	4,2	21,7
20	K-20		62,5	20,5	12,4
21	K-21		15,3	2,1	17,2
22	K-22		14,5	1,6	10,7
23	K-23		4,4	--	3,4
24	K-24		27,2	5,8	9,4
25	K-25		10,4	3,2	5,1
26	K-26		4,0	--	2,2
27	K-27		18,2	4,7	8,5
28	K-28		31,5	2,1	14,5
29	K-29		13,1	1,5	13,2
30	K-30		25,5	5,6	9,5

- nie stwierdzono

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

L.p.	Hodowla Kobierzyce	Doświadczenie Kobierzyce		Doświadczenie Radzików	
	Genotyp	ERG [ppm]	BEA [ppm]	ERG [ppm]	BEA [ppm]
31	K-31	20,3	3,6	7,5	2,4
32	K-32	21,1	2,6	2,8	--
33	K-33	3,8	--	7,2	1,9
34	K-34	10,3	2,5	11,5	5,2
35	K-35	25,2	3,4	12,8	9,6
36	K-36	6,6	--	2,1	--
37	K-37	19,1	--	7,9	1,8
38	K-38	36,5	2,3	9,7	3,7
39	K-39	10,2	--	9,8	2,4
40	K-40	60,9	5,7	9,2	2,8
41	K-41	40,7	6,4	14,5	5,2
42	K-42	75,0	26,8	14,9	13,2
43	K-43	6,0	--	16,7	10,7
44	K-44	10,2	3,2	3,5	--
45	K-45	116,8	22,3	7,4	2,5
46	K-46	50,2	8,1	35,8	24,1
47	K-47	49,0	15,6	21,1	12,5
48	K-48	20,7	8,7	14,2	3,4
49	K-49	30,4	13,5	18,4	7,2
50	K-50	24,0	10,4	8,7	1,9
51	K-51	5,9	--	9,2	1,8
52	K-52	4,2	--	7,6	2,2
53	K-53	10,5	--	12,8	3,8
54	K-54	22,5	2,2	11,5	3,2
55	K-55	3,5	--	6,6	1,9
56	K-56	10,5	3,2	6,7	2,4
57	K-57	7,5	--	13,8	3,4
58	K-58	15,1	3,1	11,4	2,9
59	K-59	11,3	1,7	14,5	3,7
60	K-60	45,2	9,6	13,2	4,1

- nie stwierdzono

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*

Materiał i metody

- pozyskanie izolatów *F.temperatum* do badań z zakresu spektrum biosyntetyzowanych metabolitów, patogeniczności i zmienności. Izolaty w liczbie 70 wprowadzano z ziarniaków uzyskanych z kolb wykazujących objawy fuzariozy rozwijającej się w następstwie infekcji naturalnych. Izolację i identyfikację prowadzono z zastosowaniem standardowych metod mających zastosowanie w diagnostyce *Fusarium* (Kwaśna i in. 1991). Pod uwagę brano struktury morfologiczne typowe dla badanego gatunku grzyba tj. występowanie i usytuowanie makrokonidiów, mezokonidiów oraz mikrokoniów w kulturze prowadzonej na sztucznym podłożu SNA i PDA. Wiarygodność diagnostyki potwierdzano 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 otrzymanych produktów amplifikacji fragmentów genów czynnika elongacji alfa (*EF-1&*) i β -*tubuliny*, uznawanych za podstawowe geny umożliwiające jednoznaczną identyfikację gatunku grzyba (markery barkodingu).

Wykonano prostą analizę molekularną populacji patogena w zakresie frekwencji dopełniających typów kojarzeniowych *F.temperatum* (*MATI-1* i *MATI-2*). Ich wyznaczenie dostarczyło wiedzy na temat epidemiologii i zmienności tego grzyba.

- analiza spektrum biosyntetyzowanych metabolitów *F.temperatum* prowadzono w oparciu o ziarniaki kukurydzy i ryżu stanowiące podłożo, na którym w warunkach *in-vitro* prowadzono hodowlę patogena. Podłożo w ilości 50 g, po doprowadzeniu do wilgotności 45% a następnie zautoklawowaniu zaszczepiano zawiesiną zarodników o mianie 10^6 . Hodowlę prowadzono w 750 ml kolbach Erlenmeyera przez dwa tygodnie. Po tym czasie przerośnięte przez *F.temperatum* podłożo 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 heksadepsytydowych oraz ergosterolu.
- Analiza fumonizyn - Ekstrakcja fumonizyn była prowadzona mieszaniną metanolu i wody (3 +1, V/V) z próbek materiału uprzednio rozdrobnionego. Ekstrakty po przefiltrowaniu następnie oczyszczano na kolumnach jonowymiennych SAX i zbierano 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 heksadepsipeptydowych (BEA, ENN) - 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).
- 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 wykałaczki przerosniętej 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.

Kwaśna H., Chelkowski J., Zajkowski P. 1991. Grzyby (Mycota), Grzyby niedoskonale (Deuteromycetes), Strzępczakowe (Hypocreales), Gruźlikowate (Tuberculariaceae), Sierpink (Fusarium). PAN, Inst. Botaniki, Warszawa - Kraków. T. XXII: 136 ss.

Scauflaire J., Gourgue M., Callebaut A., Munaut F. 2012. *Fusarium temperatum*, a mycotoxin-producing pathogen of maize. Eur J Plant Pathol 133: 911–922.

Wyniki

A/ Analiza molekularna izolatów *F.temperatum*

Izolaty do badań pochodziły z ziarników uzyskanych z kolb wykazujących objawy fuzariozy rozwijającej się w następstwie infekcji naturalnych. Ziarniki wykładano na podłoże PDA w szalkach Petriego, a po uzyskaniu wzrostu plechy, grzybnię o cechach *Fusarium* spp. pasażowano na skosy. Wstępную identyfikację uzyskanych izolatów, przeprowadzano na podłożu SNA. Z izolatów o cechach *F. temperatum* wyprowadzano kultury jednozarodnikowe, które stanowiły podstawę do badań molekularnych.

Do charakterystyki molekularnej izolatów wykorzystano całkowite DNA grzybów, które uzyskano przy zastosowaniu zmodyfikowanej metody CTAB (Doohan i in., 1998; Tomczak i in., 2002). Materiał wyjściowy do izolacji DNA stanowiła poddana uprzedniej liofilizacji grzybnia kultur jednozarodnikowych *Fusarium* spp. Homogenizację materiału do izolacji DNA prowadzono w homogenizatorze Fast Prep-24 (MP Biomedicals, USA). Jakość i ilość uzyskanych kwasów nukleinowych weryfikowano spektrofotometrycznie przy pomocy czytnika mikropłytek do pomiaru absorbancji Infinite® M200 PRO NanoQuant i dołączonego oprogramowania I-control (Tecan). Wyniki oceny jakościowej i ilościowej uzyskanych matryc DNA przedstawiono w tabeli 3.1.

Doohan FM, Parry DW, Jenkinson P, Nicholson P. 1998. The use of species-specific PCR-based assays to analyse *Fusarium* ear blight of wheat. Plant Pathol. 47:197–205.

Tomczak M., Wiśniewska H., Stępień L., Kostecki M., Chełkowski J., Goliński P. 2002. Deoxynivalenol, nivalenol and moniliformin occurrence in wheat samples with scab symptoms in Poland (1998–2000). Eur. J. Plant Path. 108: 625–630

Tabela 3.1. Stężenie i czystość wyizolowanego DNA izolatów PFt-301 - PFt-370

L.p.	Izolat PFt	Stężenie DNA [ng/μl]	Czystość DNA (Ratio)
1	PFt-301	103,9	1,95
2	PFt-302	81,6	1,96
3	PFt-303	29,7	1,94
4	PFt-304	61,9	1,95
5	PFt-305	28,6	1,8
6	PFt-306	56,1	1,93
7	PFt-307	91,0	1,86
8	PFt-308	50,8	1,98
9	PFt-309	69,7	1,91
10	PFt-310	22,4	1,87
11	PFt-311	25,9	1,85
12	PFt-312	45,7	1,93
13	PFt-313	55,1	1,93
14	PFt-314	36,1	1,87
15	PFt-315	48,9	1,94
16	PFt-316	55,6	1,98
17	PFt-317	42,6	2,00
18	PFt-318	51,1	1,95
19	PFt-319	32,6	1,92
20	PFt-320	18,9	1,95
21	PFt-321	13,3	2,05
22	PFt-322	83,6	1,90
23	PFt-323	31,1	1,98
24	PFt-324	47,1	1,95
25	PFt-325	34,5	1,93
26	PFt-326	23,6	1,89
27	PFt-327	26,7	1,91
28	PFt-328	46,3	1,91
29	PFt-329	29,7	1,97
30	PFt-330	34,8	2,01
31	PFt-331	19,6	1,88
32	PFt-332	25,2	1,88
33	PFt-333	58,9	1,99
34	PFt-334	23,2	1,93

Tabela 3.1. cd. Steżenie i czystość wyizolowanego DNA izolatów PFt-301 - PFt-370

L.p.	Izolat PFt	Steżenie DNA [ng/ μ l]	Czystość DNA (Ratio)
35	PFt-335	41,7	1,90
36	PFt-336	50,1	1,83
37	PFt-337	49,1	1,90
38	PFt-338	46,3	1,94
39	PFt-339	71,7	1,90
40	PFt-340	13,0	1,78
41	PFt-341	102,4	1,90
42	PFt-342	123,1	1,84
43	PFt-343	50,3	1,87
44	PFt-344	46,6	1,91
45	PFt-345	105,5	1,91
46	PFt-346	75,3	1,89
47	PFt-347	124,6	1,93
48	PFt-348	84,3	1,96
49	PFt-349	23,0	1,95
50	PFt-350	24,5	1,90
51	PFt-351	50,7	2,00
52	PFt-352	16,7	1,86
53	PFt-353	65,6	1,91
54	PFt-354	103,6	1,91
55	PFt-355	69,2	2,02
56	PFt-356	40,8	1,95
57	PFt-357	104,4	1,89
58	PFt-358	72,0	1,94
59	PFt-359	47,0	1,99
60	PFt-360	42,0	1,94
61	PFt-361	45,1	1,84
62	PFt-362	53,9	1,99
63	PFt-363	213	1,85
64	PFt-364	40,5	1,94
65	PFt-365	33,8	1,98
66	PFt-366	49,3	1,90
67	PFt-367	29,6	1,89
68	PFt-368	36,6	1,78
69	PFt-369	21,9	2,03
70	PFt-370	96,2	1,96

Identyfikację molekularną badanych izolatów przeprowadzano z zastosowaniem techniki barkodingu DNA. Jako barkody DNA wykorzystano markery o uznanej skuteczności w identyfikacji gatunkowej grzybów z rodzaju *Fusarium*: Translation Elongation Factor 1- α (*EF-1 α*) oraz fragment genu kodującego β -*tubulinę*. W celu zamplifikowania tych fragmentów genomu grzybów całkowite DNA izolatów *Fusarium* spp. poddawano reakcji amplifikacji z wykorzystaniem starterów specyficznych (Geiser i in. 2004; O'Donnell i Cigelnik, 1997).

W obrębie badanej populacji określono frekwencję typów kojarzeniowych *MATI-1* i *MATI-2*. W tym celu DNA izolatów poddawano reakcji PCR w celu zamplifikowania fragmentów idiomorf *MATI-1* i *MATI-2*. W analizach zastosowano pary starterów Gfmat1 i Gfmat2 (Steenkamp i in. 2000).

Zestawienie starterów zastosowanych w doświadczeniach, ich sekwencje oraz odpowiadające im wielkości amplifikowanego fragmentu DNA przedstawiono poniżej w tabeli 3.2.

Tabela 3.2. 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	Geiser i in. 2004	
	EF2	5'-GGAAGTACCACTGATCATGTT-3'			
β-tubulina	T1	5'-AACATGCGTGAGATTGTAAGT-3'	1220 pz	O'Donnell i Cigelnik, 1997	
	T22	5'-TCTGGATGTTGTTGGGAATCC-3'			
MAT1-1	Gfmat1a	5'-GTTCATCAAAGGGCAAGCG-3'	200 pz	Steenkamp i in., 2000	
	Gfmat1b	5'-TAAGCGCCCTTAAACGCCTTC-3'			
MAT1-2	Gfmat2c	5'-AGCGTCATTATTCGATCAAG-3'	800 pz		
	Gfmat2d	5'-CTACGTTGAGAGCTGTACAG-3'			

Tabela 3.3. Skład mieszaniny reakcyjnej PCR

Reakcje amplifikacji prowadzono w termocyklerach 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 3.3.

Zastosowane warunki reakcji dla poszczególnych markerów zestawiono w tabeli 3.4.

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

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

Geiser D.M., Jimenez Gasco M.M., Kang S., Makalowska I., Veeraraghavan N., Ward T.J., Zhang N., Kuldau G.A., O'Donnell K. 2004. FUSARIUM-IDv. 1.0: A DNA sequence database for identifying Fusarium. European Journal of Plant Pathology 110: 473-479.

O'Donnell K, Cigelnik E. 1997. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus Fusarium are nonorthologous. Mol Phylogenetic Evol 7:103-116

Steenkamp E.T., Wingfield B.D., Coutinho T.A., Zeller K.A., Wingfield M.J., Marasas W.F.O., Leslie J.F. 2000. PCR-based identification of *MAT-1* and *MAT-2* in the *Gibberella fujikuroi* species complex. Appl. Environ. Microbiol. 66(10): 4378-4382.

Tabela 3.4. Warunki reakcji PCR

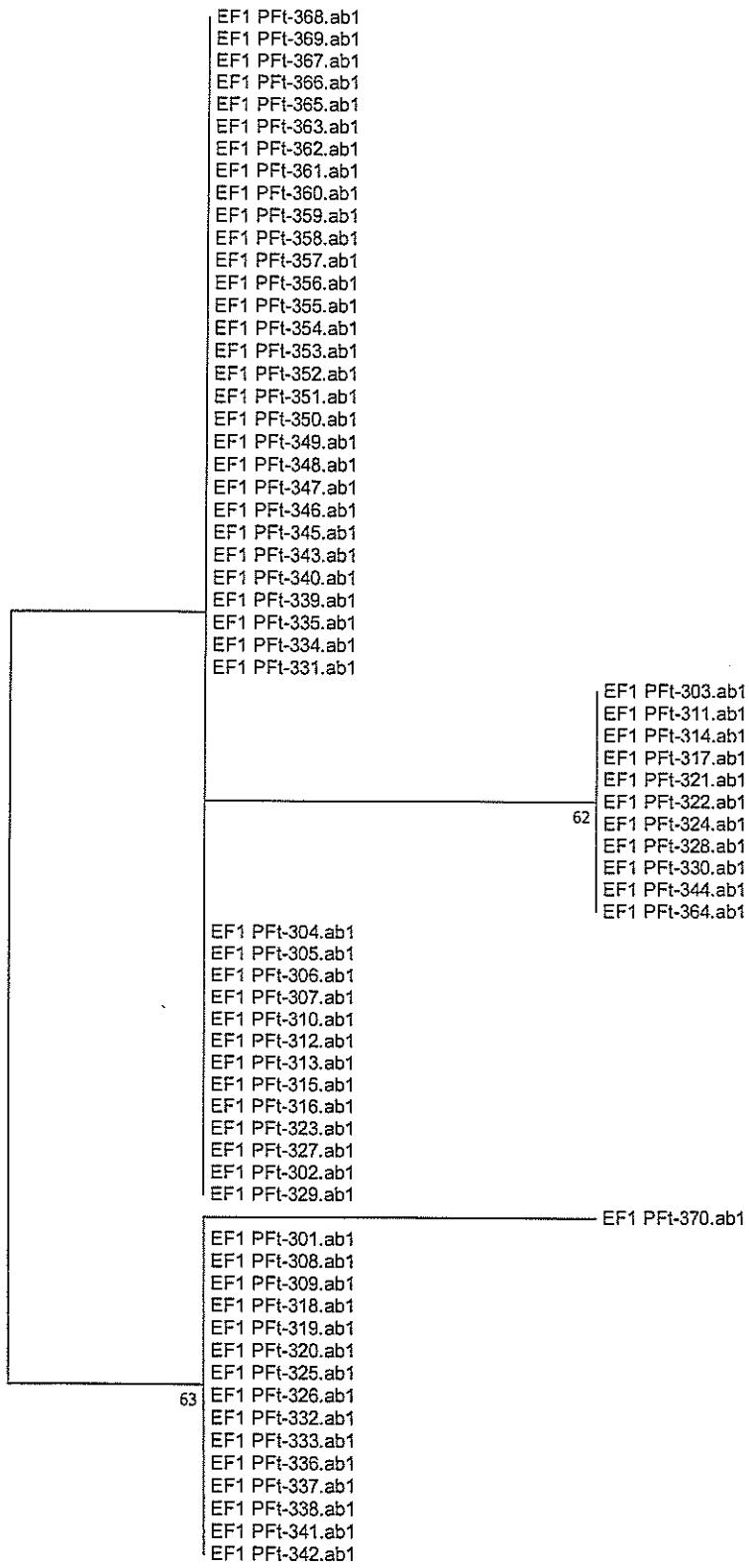
Etapy reakcji PCR:	EF-1 α		β -tubulina		MAT1-1 / MAT1-2		
	5 minut, 94 °C		5 minut, 94 °C		1 minuta, 94 °C		
Wstępna denaturacja	40 cykli	30 sekund 95 °C	40 cykli	35 sekund 94 °C	35 cykli	60 sekund 94 °C	
		45 sekund 58 °C		55 sekund 54 °C		60 sekund 58 °C	
		75 sekund 72 °C		90 sekund 72 °C		60 sekund 72 °C	
Denaturacja	7 minut, 72 °C		7 minut, 72 °C		10 minut, 72 °C		
Przyłączanie starterów							
Synteza nici komplementarnych							
Końcowe wydłużanie syntetyzowanego odcinka DNA							

Uzyskane amplikony *EF-1 α* i β -tubuliny oczyszczano i sekwencjonowano w Pracowni Sekwencjonowania Instytutu Biochemii i Biofizyki (IBB) Polskiej Akademii Nauk.

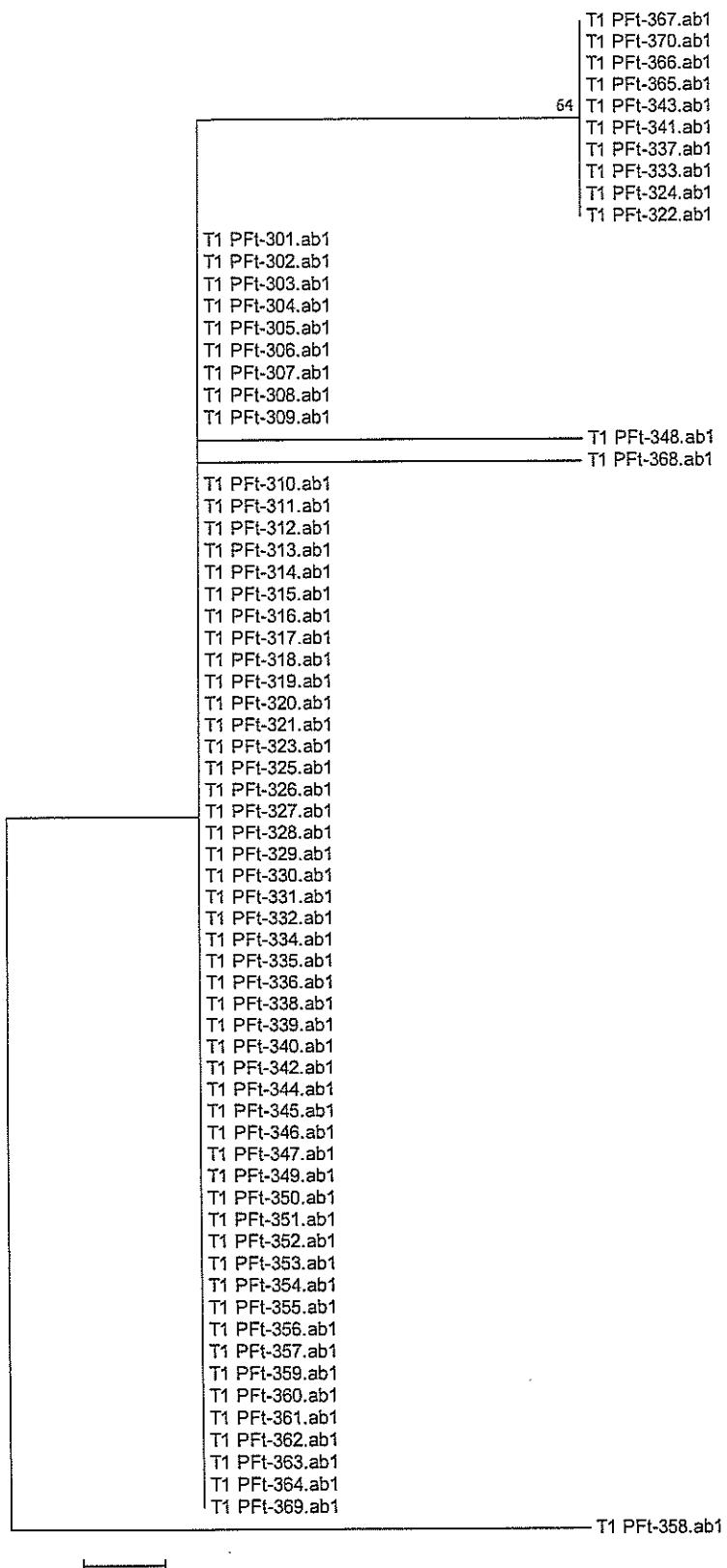
Średnia długość uzyskanych sekwencji wyniosła 735 pz dla *EF-1 α* i 1105 pz dla β -tubuliny. Do dalszych analiz wybrano fragmenty sekwencji *EF-1 α* i β -tubuliny o wysokiej jakości odczytu, których długość wyniosła odpowiednio: 246 pz oraz 424 pz.

Uzyskane sekwencje Translation Elongation Factor 1- α (*EF-1 α*) i β -tubuliny analizowano z wykorzystaniem programów bioinformatycznych (MEGA 7.0 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 aktualnie dostępnych w GenBank sekwencji izolatów gatunków *Fusarium* sp. (tabela 3.5).

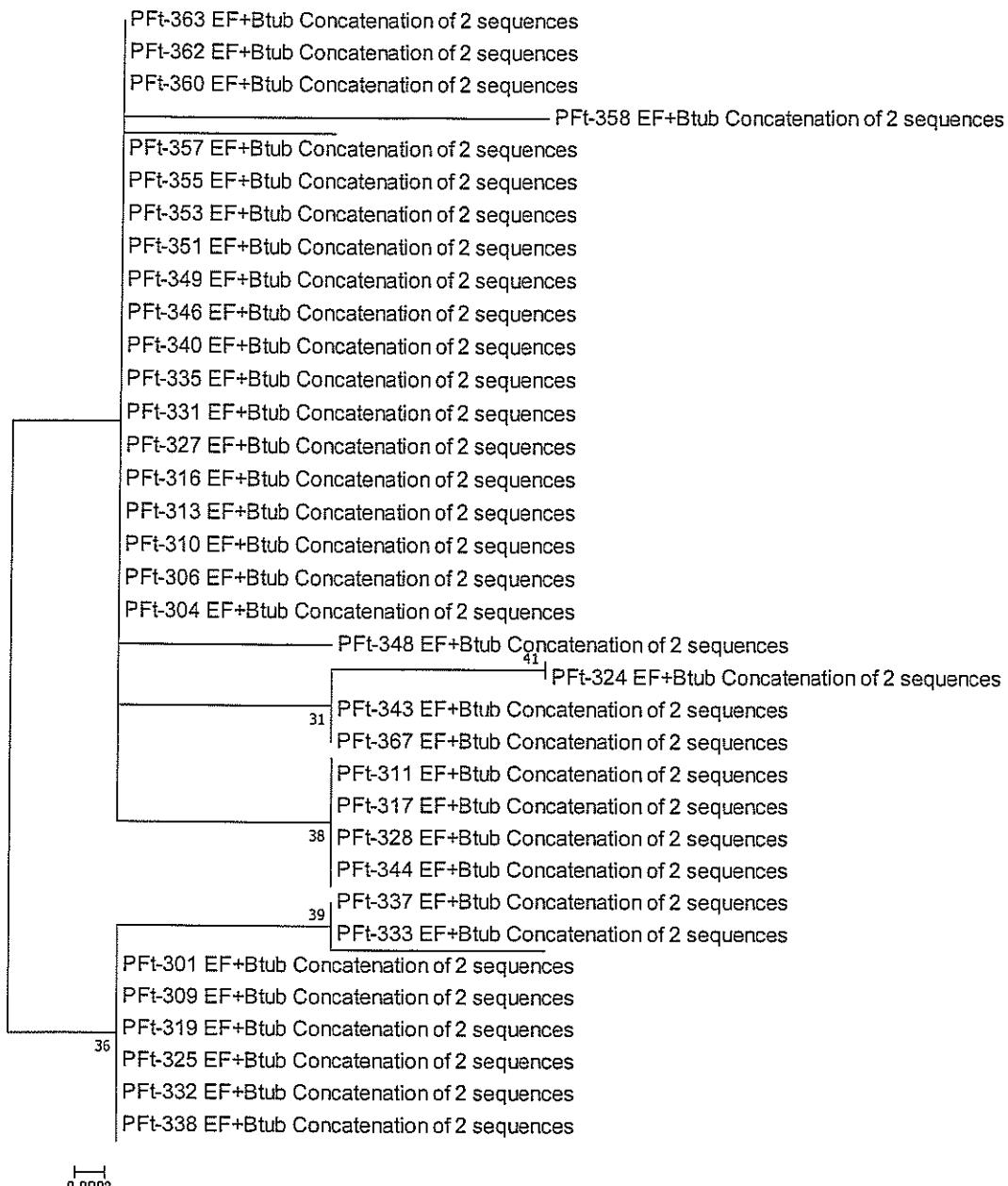
Na podstawie opracowanych dopasowań sekwencji *EF-1 α* i β -tubuliny przeprowadzono analizę pokrewieństwa filogenetycznego badanych izolatów z zastosowaniem metody największej wiarygodności (Maximum Likelihood, ML), której wyniki przedstawiono na rycinach: **rycina 1** (*EF-1 α*), **rycina 2** (β -tubulina) i **rycina 3** (połączone sekwencje obu analizowanych regionów – *EF-1 α +β-tubulina*; ang. *concatenated sequences*).



Rycina 1. Drzewo pokrewieństwa filogenetycznego sekwencji nukleotydowych *EF-1 α* badanych izolatów *Fusarium temperatum*. Drzewo obliczone za pomocą metody największej wiarygodności (Maximum Likelihood, ML) w oparciu o model Tamury i Nei z testem samopróbkowaniem na poziomie 1000 powtórzeń. Średnia odległość między dwiema sekwencjami, liczona wg wzoru Jukesa-Cantora (JC) = 0,0005.



Rycina 2. Drzewo pokrewieństwa filogenetycznego sekwencji nukleotydowych β -tubuliny badanych izolatów *Fusarium temperatum*. Drzewo obliczone za pomocą metody największej wiarygodności (Maximum Likelihood, ML) w oparciu o model Tamury i Nei z testem samopróbkowaniem na poziomie 1000 powtórzeń. Średnia odległość między dwiema sekwencjami, liczona wg wzoru Jukes-Cantora (JC) = 0,0005.



Rycina 3. Drzewo pokrewieństwa filogenetycznego złączonych sekwencji nukleotydowych *EF-1 α + β -tubulina* (ang. *concatenated sequences*) badanych izolatów *Fusarium temperatum*. Drzewo obliczone za pomocą metody największej wiarygodności (Maximum Likelihood, ML) w oparciu o model Tamury i Nei z testem samopróbkowaniem na poziomie 1000 powtórzeń. Średnia odległość między dwiema sekwencjami, liczona wg wzoru Jukesa-Cantora (JC) = 0,0002.

W celu określenia przynależności izolatów do typu kojarzeniowego uzyskane produkty reakcji PCR z zastosowaniem starterów GFmat1 i GFmat2 poddawano rozdziałowi elektroforetycznemu w świetle UV. Obecność specyficznego dla jednej z idiomorf odcinka matrycy DNA pozwoliła na weryfikację typu kojarzeniowego badanych izolatów.

Frekwencja izolatów *MAT1-1* do *MAT1-2* w badanej populacji wyniosła 35 do 35 (wynik testu χ^2 z poprawką Yatesa: $\chi^2 = 0,014$; $p=0,90581285$).

Tabela 3.5. Homologia uzyskanych sekwencji izolatów PFt-301 – PFt-370 względem dostęnych w GenBank sekwencji izolatów gatunku *F. temperatum* oraz określenie typu kojarzeniowego

L.p.	IZOLAT	BLAST Elongation Factor			BLAST B-tubulina			Typ kojarzeniowy
		%	Sekwencja homologiczna	Gatunek	%	Sekwencja homologiczna	Gatunek	
1	PFt-301	99.4%	KX156836	<i>F. temperatum</i>	100.0%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
2	PFt-302	99.8%	MG857234	<i>F. temperatum</i>	99.7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
3	PFt-303	99.7%	KX156836	<i>F. temperatum</i>	99.6%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
4	PFt-304	100.0%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.5%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
5	PFt-305	99.8%	MG857234	<i>F. temperatum</i>	99.8%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
6	PFt-306	99.8%	MG857234	<i>F. temperatum</i>	97.7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
7	PFt-307	99.8%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
8	PFt-308	99.7%	KX156836	<i>F. temperatum</i>	99.3%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
9	PFt-309	99.7%	MG857234	<i>F. temperatum</i>	99.3%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
10	PFt-310	99.5%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.6%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
11	PFt-311	99.7%	MG857484	<i>F. temperatum</i>	99.6%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
12	PFt-312	99.7%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.6%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
13	PFt-313	100.0%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.1%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
14	PFt-314	99.7%	MG857484	<i>F. temperatum</i>	99.1%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
15	PFt-315	99.8%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.2%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
16	PFt-316	99.8%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.5%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
17	PFt-317	99.8%	MG857484	<i>F. temperatum</i>	98.4%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
18	PFt-318	99.7%	KX156836	<i>F. temperatum</i>	99.3%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
19	PFt-319	99.7%	KX156836	<i>F. temperatum</i>	99.9%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
20	PFt-320	99.7%	KX156836	<i>F. temperatum</i>	99.7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
21	PFt-321	99.8%	MG857484	<i>F. temperatum</i>	99.6%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
22	PFt-322	99.8%	MG857484	<i>F. temperatum</i>	99.7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
23	PFt-323	99.8%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1

Tabela 3.5 cd. Homologia uzyskanych sekwencji izolatów PFt-301 – PFt-370 względem dostęnych w GenBank sekwencji izolatów gatunku *F. temperatum* oraz określenie typu kojarzeniowego

L.p.	IZOLAT	BLAST Elongation Factor			BLAST B-tubulina			Typ kojarzeniowy
		%	Sekwencja homologiczna	Gatunek	%	Sekwencja homologiczna	Gatunek	
24	PFt-324	99.7%	MG857484	<i>F. temperatum</i>	99.2%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
25	PFt-325	99.7%	KX156836	<i>F. temperatum</i>	99.3%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
26	PFt-326	99.7%	KX156836	<i>F. temperatum</i>	99.3%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
27	PFt-327	99.5%	MG857234	<i>F. temperatum</i>	99.2%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
28	PFt-328	99.8%	MG857484	<i>F. temperatum</i>	99.0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
29	PFt-329	99.8%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.0%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
30	PFt-330	99.8%	MG857484	<i>F. temperatum</i>	99.9%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
31	PFt-331	99.8%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.9%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
32	PFt-332	99.4%	MG857234	<i>F. temperatum</i>	99.7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
33	PFt-333	99.7%	KX156836	<i>F. temperatum</i>	99.3%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
34	PFt-334	100.0%	MG857234	<i>F. temperatum</i>	99.4%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
35	PFt-335	99.7%	MG857234	<i>F. temperatum</i>	99.7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
36	PFt-336	99.7%	KX156836	<i>F. temperatum</i>	99.4%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
37	PFt-337	99.7%	KX156836	<i>F. temperatum</i>	99.6%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
38	PFt-338	99.7%	MG857234	<i>F. temperatum</i>	99.4%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
39	PFt-339	99.5%	MG857234	<i>F. temperatum</i>	99.8%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
40	PFt-340	99.8%	MG857234	<i>F. temperatum</i>	99.9%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
41	PFt-341	99.8%	MG857234	<i>F. temperatum</i>	99.2%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
42	PFt-342	99.7%	KX156836	<i>F. temperatum</i>	99.7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
43	PFt-343	99.4%	KC964119	<i>F. temperatum</i>	99.5%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
44	PFt-344	99.8%	MG857484	<i>F. temperatum</i>	96.2%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
45	PFt-345	100.0%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.3%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
46	PFt-346	100.0%	MG857234	<i>F. temperatum</i>	100.0%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1

Tabela 3.5 cd. Homologia uzyskanych sekwencji izolatów PFt-301 – PFt-370 względem dostępnego w GenBank sekwencji izolatu *F. temperatum* oraz określenie typu kojarzeniowego

Lp	IZOLAT	BLAST Elongation Factor			BLAST B-tubulina			Typ kojarzeniowy
		%	Sekwencja homologiczna	Gatunek	%	Sekwencja homologiczna	Gatunek	
47	PFt-347	99.8%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
48	PFt-348	99.8%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.1%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
49	PFt-349	99.8%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	98.7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
50	PFt-350	99.8%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.3%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
51	PFt-351	99.8%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
52	PFt-352	100.0%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.2%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
53	PFt-353	99.8%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.2%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
54	PFt-354	100.0%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.8%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
55	PFt-355	99.7%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.6%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
56	PFt-356	99.7%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	98.9%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
57	PFt-357	100.0%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.4%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
58	PFt-358	99.1%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.2%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
59	PFt-359	100.0%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.6%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
60	PFt-360	99.8%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.1%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
61	PFt-361	99.8%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.4%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
62	PFt-362	99.8%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	100.0%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
63	PFt-363	100.0%	KC964119	<i>F. temperatum</i>	99.6%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
64	PFt-364	99.8%	MH582313	<i>F. temperatum</i>	98.8%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
65	PFt-365	100.0%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.8%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
66	PFt-366	99.7%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
67	PFt-367	100.0%	KX432282	<i>F. temperatum</i>	99.7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
68	PFt-368	99.8%	MG857234	<i>F. temperatum</i>	98.7%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
69	PFt-369	99.8%	MG857234	<i>F. temperatum</i>	99.3%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
70	PFt-370	99.5%	MG857234	<i>F. temperatum</i>	99.3%	KC964135	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2

B/ Profil metabolitów wtórnych biosyntetyzowanych przez *Fusarium temperatum*

Profil metabolitów wtórnych biosyntetyzowanych przez izolaty *F. temperatum* przedstawiają **tabela 3.6 i 3.7**. W badaniach uwzględniono 70. izolatów wspomnianego gatunku dla których biosyntezę metabolitów prowadzono na ziarniakach kukurydzy i ryżu. Analizę przeprowadzono w kierunku występowania fumonizyn (FB1 i FB2), pochodnych heksadepsipeptydowych (BEA i ENN) oraz ergosterolu.

Na ryżu, spośród przebadanych izolatów *F. temperatum*, 5 izolatów syntetyzowało śladowe ilości fumonizyn FB1 (PFt-327, PFt-362, PFt-363, PFt-364 i PFt-368). Zawartość tego metabolitu oscylowała w przedziale 0,11-0,27 ppm. Wśród 70 analizowanych izolatów *F. temperatum*, 66 izolatów tworzyło bowerycynę (BEA). Średni poziom tego metabolitu dla populacji przebadanych izolatów wynosił 812,01 ppm. Ilościowo na ryżu najwięcej BEA biosyntetyzował izolat PFt 348 (3582,55 ppm), najmniej zaś izolat PFt 309 (1,55 ppm). Wśród 70 analizowanych izolatów *F. temperatum*, 50 izolatów syntetyzowało eniatynę A1 (ENN A1). Średni poziom ENN A1 dla populacji przebadanych izolatów wynosił 37,09 ppm. Ilościowo na ryżu najwięcej ENN A1 biosyntetyzował izolat PFt 350 (231,25 ppm), najmniej zaś izolat PFt 357, (0,10 ppm). Pośród 70 analizowanych izolatów *F. temperatum* 19 izolatów tworzyło eniatynę A (ENN A). Średni poziom ENN A dla populacji przebadanych izolatów wynosił 5,27 ppm. Ilościowo na ryżu najwięcej ENN A biosyntetyzował izolat PFt 322 (20,13 ppm), najmniej zaś izolat PFt 368 (1,20 ppm). Na podłożu ryżowym pośród badanej populacji 70 izolatów *F. temperatum*, 11 izolatów tworzyło eniatynę B (ENN B). Średni poziom ENN B dla populacji przebadanych izolatów wynosił 3,51 ppm. Ilościowo na ryżu najwięcej ENN B biosyntetyzował izolat PFt 344 (14,23 ppm), najmniej zaś izolat PFt 327 (1,50 ppm). Pośród 70 analizowanych izolatów *F. temperatum* 57 izolatów tworzyło eniatynę B1 (ENN B1). Na ryżu średni poziom ENN B1 dla populacji przebadanych izolatów wynosił 48,81 ppm. Ilościowo najwięcej ENN B1 biosyntetyzował izolat PFt 356 (319,75 ppm), najmniej zaś izolat PFt 307 (5,18 ppm). Na ryżu średni poziom ergosterolu dla populacji przebadanych izolatów wynosił 181,22 ppm. Najwyższy poziom 428,10 ppm ergosterolu zanotowano w przypadku izolatu PFt 333 zaś najniższy poziom tego metabolitu 15,70 ppm wykazał izolat o numerze PFt 338 (**tabela 3.6**).

Na kukurydzy, spośród przebadanych izolatów śladowe ilości fumonizyny (FB1) wykryto pośród izolatów: PFt 309, PFt 327, PFt 362, PFt 363 i PFt 364. Zawartość tego metabolitu oscylowała w przedziale 0,09-0,13 ppm. Pośród 70 analizowanych izolatów *F. temperatum* 69 izolatów tworzyło BEA. Średni poziom BEA dla populacji przebadanych izolatów wynosił 140,98 ppm. Ilościowo na kukurydzy najwięcej BEA biosyntetyzował izolat PFt 326 (761,25 ppm), najmniej zaś izolat PFt 313, (4,28 ppm). Wszystkie izolaty biosyntetyzowały eniatynę A1 (ENN A1). Średni poziom ENN A1 dla populacji przebadanych izolatów wynosił 52,18 ppm. Ilościowo na kukurydzy najwięcej ENN A1 biosyntetyzował izolat PFt 347 (99,95 ppm), najmniej zaś izolat PFt 314, (13,70 ppm). Pośród 70 analizowanych izolatów *F. temperatum* 17 izolatów tworzyło eniatynę A (ENN A). Średni poziom ENN A dla populacji przebadanych izolatów wynosił 24,74 ppm. Ilościowo na kukurydzy najwięcej ENN A biosyntetyzował izolat PFt 307 (81,30 ppm), najmniej zaś izolat PFt 317 (1,28 ppm). Na

kukurydzy pośród badanej populacji 70 izolatów *F. temperatum* 18 izolatów tworzyło eniatynę B (ENN B). Średni poziom ENN B dla populacji przebadanych izolatów wynosił 72,74 ppm. Ilościowo na kukurydzy najwięcej ENN B biosyntetyzował izolat PFt 358 (151,75 ppm), najmniej zaś izolat PFt 328 (2,53 ppm). Pośród 70 analizowanych izolatów *F. temperatum* 11 izolatów tworzyło eniatynę B1 (ENN B1). Średni poziom ENN B1 dla populacji przebadanych izolatów wynosił 30,84 ppm. Ilościowo na kukurydzy najwięcej ENN B1 biosyntetyzował izolat PFt 323 (108,68 ppm), najmniej zaś izolat PFt 363 (4,55 ppm). Na kukurydzy średni poziom ergosterolu dla populacji przebadanych izolatów wynosił 282,28 ppm. Najniższy poziom 29,20 ppm ergosterolu zanotowano w przypadku izolatu PFt 326, zaś najwyższą wartość tego metabolitu 761,40 ppm wykazał izolat o numerze PFt 350 (**tabela 3.7**).

Tab. 3.6. Profil metabolitów wtórnego *F. temperatum* biosyntezowanych na ryżu.

Lp	Izolat	FB1 [ppm]	FB2 [ppm]	BEA [ppm]	ENN B [ppm]	ENN B1 [ppm]	ENN A1 [ppm]	ENN A [ppm]	ERG [ppm]	Lp	Izolat [ppm]	FB1 [ppm]	FB2 [ppm]	BEA [ppm]	ENN B [ppm]	ENN B1 [ppm]	ENN A1 [ppm]	ENN A [ppm]	ERG [ppm]
1	Pf-301	--	--	29,80	--	--	4,13	138,20	24	Pf-324	--	--	1032,43	2,60	48,33	8,83	--	317,10	
2	Pf-302	--	--	582,75	--	43,03	--	2,93	211,40	25	Pf-325	--	--	1527,25	--	17,00	24,00	--	115,20
3	Pf-303	--	--	--	--	--	--	--	52,10	26	Pf-326	--	--	758,98	2,10	9,38	40,65	--	214,20
4	Pf-304	--	--	769,00	2,00	52,25	5,50	--	354,10	27	Pf-327	0,18	--	1496,33	1,50	43,13	8,80	--	194,50
5	Pf-305	--	--	350,50	--	8,75	16,18	--	340,20	28	Pf-328	--	--	275,93	--	19,40	2,70	--	87,10
6	Pf-306	--	--	--	--	--	--	--	117,50	29	Pf-329	--	--	1026,18	--	72,45	17,98	--	164,50
7	Pf-307	--	--	662,25	--	5,18	21,85	--	357,40	30	Pf-330	--	--	15,80	--	--	51,30	--	297,40
8	Pf-308	--	--	182,00	--	--	64,50	3,38	171,00	31	Pf-331	--	--	13,33	--	42,50	86,58	--	52,10
9	Pf-309	--	--	1,55	--	6,03	7,15	--	254,10	32	Pf-332	--	--	1578,53	--	19,70	21,40	--	64,80
10	Pf-310	--	--	227,48	--	14,40	10,00	--	55,80	33	Pf-333	--	--	2087,73	--	33,13	30,68	--	428,10
11	Pf-311	--	--	1931,65	--	144,28	42,25	--	140,60	34	Pf-334	--	--	286,10	1,55	23,98	--	--	341,10
12	Pf-312	--	--	--	--	11,63	11,35	--	184,10	35	Pf-335	--	--	344,70	--	73,20	25,70	--	66,40
13	Pf-313	--	--	566,40	--	10,70	32,70	--	177,20	36	Pf-336	--	--	462,75	--	245,45	110,45	--	140,70
14	Pf-314	--	--	4,70	--	--	--	--	354,20	37	Pf-337	--	--	1343,28	2,08	16,83	--	--	48,50
15	Pf-315	--	--	2472,38	--	28,28	--	--	214,70	38	Pf-338	--	--	737,90	--	39,70	--	--	15,70
16	Pf-316	--	--	45,38	--	33,38	61,85	3,15	152,40	39	Pf-339	--	--	25,45	--	--	--	--	123,20
17	Pf-317	--	--	1454,10	--	23,53	48,60	1,93	312,70	40	Pf-340	--	--	69,90	--	15,28	--	--	420,80
18	Pf-318	--	--	764,53	--	34,33	5,45	--	54,10	41	Pf-341	--	--	881,45	--	38,98	7,53	--	55,10
19	Pf-319	--	--	1073,95	--	13,30	14,05	7,50	211,40	42	Pf-342	--	--	1347,60	2,88	19,03	--	--	189,10
20	Pf-320	--	--	1446,83	--	13,38	10,93	--	74,90	43	Pf-343	--	--	969,73	--	--	--	--	239,00
21	Pf-321	--	--	444,85	--	11,63	--	--	221,40	44	Pf-344	--	--	2680,35	14,23	30,03	--	3,18	32,50
22	Pf-322	--	--	26,50	--	20,23	63,85	20,13	29,00	45	Pf-345	--	--	363,43	--	--	104,30	--	184,20
23	Pf-323	--	--	28,50	--	36,83	40,33	--	89,10	46	Pf-346	--	--	216,73	--	23,00	5,88	--	152,70

Tab. 3.6 cd. Profil metabolitów wtórnegoch *F. temperatum* biosyntetyzowanych na ryżu.

Lp	Izolat	FB1 [ppm]	FB2 [ppm]	BEA [ppm]	ENN B [ppm]	ENN A1 [ppm]	ENN B1 [ppm]	ENN A [ppm]	ERG [ppm]	Lp	Izolat [ppm]	FB1 [ppm]	FB2 [ppm]	BEA [ppm]	ENN B [ppm]	ENN A1 [ppm]	ENN A [ppm]	ERG [ppm]
47	Pf-347	--	--	612,80	--	--	--	--	115,60	59	Pf-359	--	--	95,75	--	--	45,13	12,28
48	Pf-348	--	--	3582,55	--	51,83	6,28	--	354,90	60	Pf-360	--	--	394,75	2,98	83,88	27,15	3,18
49	Pf-349	--	--	3267,48	2,85	87,23	0,25	--	220,80	61	Pf-361	--	--	723,13	3,83	6,78	10,23	--
50	Pf-350	--	--	727,60	--	9,73	231,25	--	268,90	62	Pf-362	0,12	--	1038,80	--	39,78	18,13	--
51	Pf-351	--	--	70,65	--	28,45	50,03	--	76,80	63	Pf-363	0,14	--	608,15	--	90,53	50,88	3,10
52	Pf-352	--	--	1344,83	--	104,20	1,03	--	154,10	64	Pf-364	0,27	--	2455,58	--	26,95	--	259,80
53	Pf-353	--	--	1282,58	--	171,13	6,78	--	69,90	65	Pf-365	--	--	214,88	--	16,53	101,93	9,85
54	Pf-354	--	--	108,98	--	--	13,53	--	245,10	66	Pf-366	--	--	987,03	--	44,40	17,05	3,20
55	Pf-355	--	--	204,18	--	118,95	46,55	3,35	122,80	67	Pf-367	--	--	--	--	21,95	18,73	5,78
56	Pf-356	--	--	385,15	--	319,75	139,03	3,38	248,70	68	Pf-368	0,11	--	925,40	--	--	--	1,20
57	Pf-357	--	--	835,88	--	116,65	0,10	5,43	64,70	69	Pf-369	--	--	231,28	--	43,85	--	269,80
58	Pf-358	--	--	243,03	--	9,80	67,08	--	45,80	70	Pf-370	--	--	645,38	--	48,90	--	3,15
																		155,40

- nie stwierdzono

Tab. 3.7. Profil metabolitów wtórnego *F. temperatum* biosyntetyzowanych na kukurydzy.

lp	Izolat	FB1 [ppm]	FB2 [ppm]	BEA [ppm]	ENN B [ppm]	ENN A1 [ppm]	ENN A [ppm]	ERG [ppm]	lp	Izolat	FB1 [ppm]	FB2 [ppm]	BEA [ppm]	ENN B1 [ppm]	ENN A1 [ppm]	ENN A [ppm]	ERG [ppm]		
1	Pf-301	--	--	76,50	--	--	64,00	--	87,40	24	Pf-324	--	--	240,08	45,33	20,50	43,05	--	212,40
2	Pf-302	--	--	104,75	--	--	78,00	--	148,90	25	Pf-325	--	--	162,23	17,95	--	40,63	--	46,70
3	Pf-303	--	--	208,38	--	--	52,75	--	341,50	26	Pf-326	--	--	761,25	--	--	54,78	11,98	29,20
4	Pf-304	--	--	190,00	33,00	14,35	20,58	--	259,80	27	Pf-327	0,10	--	166,03	134,25	7,50	36,48	--	661,40
5	Pf-305	--	--	385,55	--	--	47,45	--	134,50	28	Pf-328	--	--	27,15	2,53	--	50,28	--	97,90
6	Pf-306	--	--	21,35	--	--	39,65	50,28	122,60	29	Pf-329	--	--	96,55	57,23	--	45,58	--	354,10
7	Pf-307	--	--	39,85	--	--	44,90	81,30	350,70	30	Pf-330	--	--	12,15	40,23	--	20,73	77,93	132,30
8	Pf-308	--	--	38,68	--	--	58,28	--	155,20	31	Pf-331	--	--	8,68	--	--	33,40	--	554,80
9	Pf-309	0,12	--	77,58	88,93	--	67,28	--	357,70	32	Pf-332	--	--	47,68	--	--	86,58	--	487,20
10	Pf-310	--	--	120,80	--	--	24,63	--	32,70	33	Pf-333	--	--	30,73	107,55	--	39,70	--	687,20
11	Pf-311	--	--	358,80	--	--	45,80	55,28	89,80	34	Pf-334	--	--	36,40	--	--	69,15	--	450,10
12	Pf-312	--	--	191,65	--	--	39,73	--	155,40	35	Pf-335	--	--	28,38	136,25	--	32,18	--	128,50
13	Pf-313	--	--	4,28	--	--	32,63	41,33	321,10	36	Pf-336	--	--	204,03	--	--	39,18	--	170,20
14	Pf-314	--	--	5,73	--	--	13,70	5,20	574,10	37	Pf-337	--	--	60,53	--	--	92,48	--	364,50
15	Pf-315	--	--	196,50	--	--	55,53	--	478,80	38	Pf-338	--	--	295,63	--	--	13,58	81,13	-
16	Pf-316	--	--	335,95	--	30,75	97,50	12,98	125,80	39	Pf-339	--	--	281,03	150,75	--	52,18	--	98,70
17	Pf-317	--	--	178,98	--	--	93,45	1,28	197,50	40	Pf-340	--	--	49,40	--	--	28,75	--	366,90
18	Pf-318	--	--	134,23	--	--	51,68	--	255,80	41	Pf-341	--	--	112,68	55,85	--	56,08	--	45,50
19	Pf-319	--	--	76,75	58,58	21,55	46,00	33,78	439,80	42	Pf-342	--	--	29,35	--	--	47,53	--	154,20
20	Pf-320	--	--	55,85	--	--	54,78	--	125,50	43	Pf-343	--	--	341,88	--	--	87,90	3,50	159,50
21	Pf-321	--	--	48,08	--	--	37,65	--	372,40	44	Pf-344	--	--	126,35	--	--	66,48	--	113,40
22	Pf-322	--	--	8,55	--	--	43,90	--	112,50	45	Pf-345	--	--	506,25	--	--	59,58	--	698,20
23	Pf-323	--	--	--	--	108,68	61,15	--	295,40	46	Pf-346	--	--	124,78	--	--	61,60	--	368,50

Tab. 3.7 cd. Profil metabolitów wtórnego *F. temperatum* biosyntetyzowanych na kukurydzy.

lp	Izolat	FB1 [ppm]	FB2 [ppm]	BEA [ppm]	ENN B [ppm]	ENN A1 [ppm]	ENN A [ppm]	ERG [ppm]	Lp	Izolat	FB1 [ppm]	FB2 [ppm]	BEA [ppm]	ENN B [ppm]	ENN A1 [ppm]	ENN A1 [ppm]	ERG [ppm]		
47	Pf-347	--	--	174,95	--	--	99,95	9,78	287,50	59	Pf-359	--	--	71,38	--	--	67,30	--	264,20
48	Pf-348	--	--	315,15	--	--	39,65	--	142,80	60	Pf-360	--	--	100,13	--	--	78,53	--	125,80
49	Pf-349	--	--	440,38	94,75	--	47,03	--	722,80	61	Pf-361	--	--	103,00	--	--	85,60	--	312,40
50	Pf-350	--	--	105,80	--	--	33,70	5,83	761,40	62	Pf-362	0,09	--	80,13	--	--	63,93	--	554,70
51	Pf-351	--	--	13,98	--	--	53,58	--	270,20	63	Pf-363	0,12	--	31,58	--	4,55	40,10	--	744,50
52	Pf-352	--	--	137,85	--	--	58,73	--	144,10	64	Pf-364	0,13	--	521,78	13,33	71,78	76,35	17,70	189,20
53	Pf-353	--	--	190,23	--	--	39,40	5,25	108,40	65	Pf-365	--	--	91,03	118,50	8,20	34,50	--	111,80
54	Pf-354	--	--	112,80	2,68	--	67,60	3,60	89,70	66	Pf-366	--	--	320,03	--	--	37,80	--	250,70
55	Pf-355	--	--	66,40	--	--	62,55	--	451,10	67	Pf-367	--	--	6,10	--	--	15,78	--	540,60
56	Pf-356	--	--	61,23	--	--	94,78	3,68	205,00	68	Pf-368	--	--	8,03	--	--	22,13	--	358,40
57	Pf-357	--	--	27,43	--	--	27,50	--	324,50	69	Pf-369	--	--	27,80	--	--	35,08	--	357,70
58	Pf-358	--	--	40,08	151,75	37,78	44,18	--	164,50	70	Pf-370	--	--	72,30	--	--	30,65	--	214,10

- nie stwierdzono

C/ Ocena patogeniczności izolatów

Ocenę patogeniczności przeprowadzono dla 70 izolatów *F. temperatum* (tabela. 3.8). Stwierdzono istotne zróżnicowanie tej cechy w obrębie badanej populacji patogenów. Izolatami dającymi najbardziej rozległe zmiany na pędach inokulowanych roślin były izolaty PFt-349, PFt-362, PFt-363, PFt-352 oraz PFt-322. Stanowiły one podstawę do badań podatności genotypów kukurydzy przez *F. temperatum*.

Tabela 3.8. Ocena patogeniczności izolatów *F. temperatum*

IZOLAT		DŁUGOŚĆ ¹				SZEROKOŚĆ ²					INDEKS PORAŻENIA ³			
		1,34	±	1,07	i-r	0,36	±	0,25	a-m		0,68	±	1,33	g-i
PFt-301		1,03	±	0,38	a-h	0,38	±	0,13	a-r	0,42	±	0,22	a-g	
PFt-302		1,40	±	0,61	l-r	0,44	±	0,22	m-r	0,67	±	0,65	e-i	
PFt-303		1,26	±	0,39	e-p	0,39	±	0,24	c-r	0,47	±	0,22	a-g	
PFt-304		1,29	±	0,52	g-r	0,34	±	0,07	a-h	0,44	±	0,22	a-d	
PFt-305		1,17	±	0,36	b-m	0,37	±	0,09	a-n	0,43	±	0,17	a-d	
PFt-306		1,16	±	0,42	a-l	0,42	±	0,25	k-r	0,53	±	0,45	a-h	
PFt-307		1,19	±	0,50	b-n	0,37	±	0,11	a-o	0,47	±	0,28	a-g	
PFt-308		1,16	±	0,34	b-l	0,40	±	0,13	e-r	0,48	±	0,21	a-g	
PFt-309		0,92	±	0,36	a-e	0,44	±	0,10	e-r	0,40	±	0,19	a-h	
PFt-310		1,09	±	0,48	a-i	0,31	±	0,13	a-b	0,35	±	0,21	a-b	
PFt-311		0,97	±	0,43	a-c	0,38	±	0,14	a-o	0,37	±	0,21	a-b	
PFt-312		1,08	±	0,48	a-h	0,36	±	0,12	a-l	0,41	±	0,25	a-d	
PFt-313		1,21	±	0,62	c-n	0,44	±	0,26	n-r	0,67	±	1,04	f-i	
PFt-314		0,96	±	0,39	a-b	0,32	±	0,14	a-c	0,32	±	0,22	a	
PFt-315		1,12	±	0,35	a-l	0,41	±	0,11	e-r	0,48	±	0,23	a-h	
PFt-316		1,12	±	0,44	a-l	0,39	±	0,10	a-r	0,47	±	0,29	a-h	
PFt-317		1,12	±	0,41	a-k	0,34	±	0,11	a-j	0,40	±	0,22	a-d	
PFt-318		1,33	±	0,84	h-r	0,45	±	0,21	p-r	0,68	±	0,86	g-i	
PFt-319		1,37	±	0,61	k-r	0,38	±	0,12	a-p	0,53	±	0,29	a-h	
PFt-320		1,15	±	0,43	a-l	0,39	±	0,14	d-r	0,47	±	0,28	a-g	
PFt-321		1,94	±	1,26	s	0,45	±	0,24	r	1,14	±	1,72	j	
PFt-322		1,16	±	0,50	b-l	0,43	±	0,17	m-r	0,52	±	0,31	a-h	
PFt-323		1,34	±	0,43	i-r	0,43	±	0,13	k-r	0,58	±	0,29	b-i	
PFt-324		1,21	±	0,40	d-n	0,41	±	0,16	h-r	0,49	±	0,25	a-g	
PFt-325		1,16	±	0,45	a-l	0,35	±	0,17	a-k	0,43	±	0,29	a-d	
PFt-326		1,20	±	0,44	c-n	0,39	±	0,10	a-r	0,48	±	0,22	a-g	
PFt-327		1,13	±	0,39	a-l	0,37	±	0,12	a-o	0,42	±	0,18	a-e	
PFt-328		1,15	±	0,41	b-k	0,38	±	0,13	c-p	0,46	±	0,26	a-f	
PFt-329		0,92	±	0,38	a	0,33	±	0,14	a-g	0,32	±	0,20	a	
PFt-330		0,93	±	0,57	a-b	0,40	±	0,13	e-r	0,41	±	0,28	a-d	
PFt-331		1,32	±	0,40	h-r	0,37	±	0,13	a-m	0,50	±	0,24	a-h	
PFt-332		1,21	±	0,68	c-n	0,34	±	0,21	a-i	0,52	±	0,71	a-h	
PFt-333		1,13	±	0,49	a-j	0,45	±	0,13	o-r	0,52	±	0,30	a-h	
PFt-334		1,14	±	0,39	a-m	0,31	±	0,12	a-d	0,36	±	0,17	a-c	
PFt-335														

Tabela 3.8. cd. Ocena patogeniczności izolatów *F. temperatum*

IZOLAT		DŁUGOŚĆ ¹				SZEROKOŚĆ ²				INDEKS PORAŻENIA ³							
		DL	±	SZ	IND	DL	±	SZ	IND	DL	±	SZ	IND				
PFt-336		1,04	±	0,48	a-g			0,33	±	0,14	a-h			0,38	±	0,25	a-d
PFt-337		1,27	±	0,37	e-r			0,40	±	0,11	e-r			0,53	±	0,23	a-h
PFt-338		1,30	±	0,59	e-r			0,35	±	0,12	a-l			0,46	±	0,26	a-g
PFt-339		1,15	±	0,39	a-m			0,42	±	0,15	i-r			0,51	±	0,26	a-h
PFt-340		1,19	±	0,65	c-m			0,40	±	0,18	e-r			0,53	±	0,51	b-h
PFt-341		1,22	±	0,41	d-o			0,42	±	0,11	i-r			0,53	±	0,27	a-h
PFt-342		0,97	±	0,34	a-d			0,35	±	0,09	a-k			0,36	±	0,18	a-b
PFt-343		1,26	±	0,31	e-r			0,30	±	0,08	a			0,39	±	0,16	a-d
PFt-344		1,12	±	0,36	a-k			0,37	±	0,13	a-o			0,43	±	0,24	a-d
PFt-345		1,43	±	0,48	n-r			0,40	±	0,21	e-r			0,62	±	0,41	d-i
PFt-346		1,27	±	0,75	f-o			0,38	±	0,26	c-p			0,58	±	0,77	c-h
PFt-347		1,31	±	0,62	g-r			0,41	±	0,19	e-r			0,61	±	0,66	c-i
PFt-348		1,18	±	0,39	a-n			0,42	±	0,17	i-r			0,52	±	0,31	a-h
PFt-349		1,48	±	0,96	o-r			0,41	±	0,17	i-r			0,71	±	0,87	h-i
PFt-350		1,27	±	0,28	c-r			0,44	±	0,12	l-r			0,56	±	0,18	a-i
PFt-351		1,13	±	0,36	a-j			0,36	±	0,11	a-l			0,41	±	0,21	a-d
PFt-352		1,52	±	0,84	r			0,43	±	0,23	l-r			0,81	±	1,18	i
PFt-353		1,28	±	0,55	e-r			0,39	±	0,09	b-r			0,51	±	0,25	a-h
PFt-354		1,40	±	0,47	m-r			0,38	±	0,15	a-o			0,54	±	0,29	b-h
PFt-355		1,31	±	0,54	g-r			0,33	±	0,13	a-g			0,48	±	0,28	a-g
PFt-356		1,38	±	0,58	j-r			0,39	±	0,16	a-r			0,56	±	0,32	b-h
PFt-357		1,30	±	0,37	g-r			0,37	±	0,14	a-o			0,50	±	0,24	a-h
PFt-358		1,09	±	0,42	a-i			0,43	±	0,18	k-r			0,47	±	0,27	a-g
PFt-359		1,34	±	0,47	i-r			0,38	±	0,20	a-p			0,56	±	0,55	b-h
PFt-360		1,05	±	0,36	a-f			0,33	±	0,13	a-f			0,36	±	0,22	a-b
PFt-361		1,11	±	0,42	a-j			0,38	±	0,09	a-r			0,41	±	0,19	a-d
PFt-362		1,48	±	0,82	o-r			0,46	±	0,11	r			0,69	±	0,47	g-i
PFt-363		1,52	±	0,57	p-r			0,42	±	0,15	j-r			0,69	±	0,45	g-i
PFt-364		1,22	±	0,34	c-p			0,33	±	0,11	a-g			0,42	±	0,21	a-d
PFt-365		1,23	±	0,34	d-o			0,41	±	0,16	h-r			0,53	±	0,28	a-h
PFt-366		1,12	±	0,46	a-m			0,37	±	0,12	a-p			0,43	±	0,25	a-g
PFt-367		1,11	±	0,42	a-i			0,36	±	0,17	a-l			0,42	±	0,25	a-d
PFt-368		1,17	±	0,41	a-n			0,40	±	0,12	e-r			0,48	±	0,22	a-h
PFt-369		1,24	±	0,39	e-o			0,38	±	0,18	a-o			0,49	±	0,31	a-h
PFt-370		1,28	±	0,50	e-r			0,37	±	0,14	a-n			0,49	±	0,26	a-h

¹DL – długość nekrozy [cm] powstającej po inokulacji pędu *F. temperatum*²SZ – szerokość nekrozy [cm] powstającej po inokulacji pędu *F. temperatum*³IND – indeks porażenia SZ×DL