

4. Opis tematów badawczych

4.1. 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 połowych planowany układ doświadczenia w 2019 roku odpowiadał schematowi badań z poprzednich lat (2015-2018).

- 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 Odział 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” opisaną w temacie 3. Spośród 50 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-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.

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 wahał się od 0,74 (dla genotypu K-22) do 2,95 w przypadku genotypu o numerze kodowym K-12 (**tabela 1.1**).

Średni stopień porażenia materiałów pochodzących z hodowli MHR Kobierzyce (1,42) i HRS Smolice (1,33) różnił się znacznie i różnica ta przy $\alpha = 0,05$ była statystycznie istotna ($F=15,37$ $p= 0,0001$).

Formy flint pochodzące z hodowli MHR Kobierzyce były porażone w zakresie od 0,74 do 2,95 (**rycina 1.1**), natomiast dent od 0,75 do 2,00 (**rycina 1.2**).

Formy flint pochodzące z hodowli HRS Smolice były porażone w zakresie 0,85 do 1,83 (**rycina 1.3**), natomiast dent od 0,97 do 2,05 (**rycina 1.4**).

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

- zmienność porażenia kolb badanych genotypów od 0,70 dla genotypu o numerze kodowym S-5 do 2,50 dla genotypu o numerze S-48.
- Formy flint były porażone w zakresie od 0,70 (S-5) do 2,44 (S-22), natomiast dent od 0,76 (S-33) do 2,50 (S-48).

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-38 do 3,15 dla genotypu o numerze K-12.
- Formy flint były porażone w zakresie od 0,67 (K-22) do 3,15 (K-12), natomiast dent od 0,50 (K-38) do 2,50 (K-39).

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

- zmienność porażenia kolb badanych genotypów od 0,30 dla genotypu o numerze kodowym S-44 do 1,90 dla genotypu o numerze S-19.
- Formy flint były porażone w zakresie od 0,71 (S-10) do 1,90 (S-19), natomiast dent od 0,30 (S-44) do 1,86 (S-56).

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

- zmienność porażenia kolb badanych genotypów od 0,23 dla genotypu o numerze kodowym K-43 do 2,75 dla genotypu o numerze K-12.
- Formy flint były porażone w zakresie od 0,50 (K-7) do 2,75 (K-12), natomiast dent od 0,23 (K-43) do 2,10 (K-52).

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 1,33 i 1,42 ($F=15,37$ $p=0,0001$) (**rycina 1.8**).

W przypadku materiałów pochodzących z hodowli HRS Smolice, testowanych w Smolicach i Radzikowie (hodowla A) zmienność porażenia kolb badanych genotypów wahała się od 0,85 dla genotypu o numerze kodowym S-5 do 2,05 dla genotypu o numerze S-48. Formy flint pochodzące z tej hodowli były porażone w zakresie od 0,85 do 1,83, natomiast dent od 0,97 do 2,05 (**tabela 1.6**).

Zakres zmienności badanej cechy dla materiałów pochodzących z hodowli MHR Kobierzyce, testowanych w Kobierzycach i Radzikowie (hodowla B) wahał się od wartości 0,74 dla genotypu o numerze kodowym K-22 do 2,95 dla genotypu K-12. Formy flint pochodzące z tej hodowli były porażone w zakresie 0,74 do 2,95, natomiast dent od 0,75 do 2,00 (**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 ($F=124,89$ $p=0,000$). Średni stopień porażenia materiałów badanych w Radzikowie wynosił 1,21 i był istotnie mniejszy niż w Smolicach (1,43) i Kobierzycach (1,64) (**rycina 1.5**). Formy flint kukurydzy były istotnie słabiej porażane niż dent (**rycina 1.6**). Stopień porażenia roślin wynosił odpowiednio 1,32 i 1,43. Zależność taką obserwowano w przypadku trzech lokalizacji doświadczenia tj. Smolice, Kobierzyce i Radzików. Porażenie form dent i flint wynosiło odpowiednio:

- w Smolicach 1,56 i 1,29 ($F=31,77$ $p=0,0000$)
- w Radzikowie 1,25 i 1,16 ($F=11,68$ $p=0,0006$)
- w Kobierzycach 1,64 i 1,63 ($F=0,02$ $p=0,8920$)

Różnice w dwóch lokalizacjach doświadczenia (Smolice i Radzików) 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	1,53	±	0,76	31	S-31	1,38	±	0,73
2	S-2	1,19	±	0,69	32	S-32	1,23	±	0,93
3	S-3	1,62	±	1,02	33	S-33	1,00	±	0,53
4	S-4	1,59	±	0,85	34	S-34	1,38	±	0,68
5	S-5	0,85	±	0,43	35	S-35	1,30	±	0,66
6	S-6	0,95	±	0,57	36	S-36	1,49	±	0,79
7	S-7	0,97	±	0,60	37	S-37	1,49	±	0,72
8	S-8	1,33	±	0,66	38	S-38	1,55	±	0,76
9	S-9	1,12	±	1,01	39	S-39	1,39	±	0,84
10	S-10	0,97	±	0,52	40	S-40	1,59	±	0,79
11	S-11	0,92	±	0,53	41	S-41	1,43	±	0,50
12	S-12	0,93	±	0,42	42	S-42	1,05	±	0,60
13	S-13	1,45	±	0,60	43	S-43	1,29	±	0,71
14	S-14	1,82	±	0,65	44	S-44	1,35	±	1,31
15	S-15	1,09	±	0,66	45	S-45	1,63	±	0,81
16	S-16	1,12	±	0,55	46	S-46	0,97	±	0,77
17	S-17	1,16	±	0,64	47	S-47	1,45	±	0,62
18	S-18	1,17	±	0,75	48	S-48	2,05	±	0,89
19	S-19	1,80	±	0,76	49	S-49	1,33	±	0,76
20	S-20	0,85	±	0,48	50	S-50	1,53	±	0,61
21	S-21	0,88	±	0,33	51	S-51	1,53	±	0,82
22	S-22	1,83	±	1,26	52	S-52	1,33	±	0,62
23	S-23	1,35	±	0,72	53	S-53	1,23	±	0,48
24	S-24	1,50	±	0,64	54	S-54	1,46	±	0,74
25	S-25	1,42	±	0,68	55	S-55	1,33	±	1,00
26	S-26	1,26	±	0,55	56	S-56	1,59	±	0,78
27	S-27	1,67	±	0,84	57	S-57	1,68	±	0,91
28	S-28	1,30	±	0,61	58	S-58	1,50	±	0,72
29	S-29	0,87	±	0,34	59	S-59	1,75	±	0,81
30	S-30	1,08	±	0,35	60	S-60	1,10	±	0,38

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	1,15	±	0,83	91	K-31	1,44	±	0,68
62	K-2	1,90	±	0,98	92	K-32	1,67	±	0,77
63	K-3	1,45	±	0,76	93	K-33	1,63	±	0,67
64	K-4	1,33	±	0,62	94	K-34	1,43	±	0,64
65	K-5	1,34	±	0,88	95	K-35	1,59	±	0,79
66	K-6	1,28	±	0,55	96	K-36	1,63	±	0,70
67	K-7	1,04	±	0,60	97	K-37	1,33	±	0,69
68	K-8	2,09	±	1,15	98	K-38	0,75	±	0,49
69	K-9	1,06	±	0,35	99	K-39	1,93	±	1,07
70	K-10	1,40	±	0,63	100	K-40	1,03	±	0,49
71	K-11	2,11	±	0,92	101	K-41	1,58	±	0,64
72	K-12	2,95	±	0,60	102	K-42	1,97	±	0,83
73	K-13	0,78	±	0,48	103	K-43	1,27	±	1,07
74	K-14	1,26	±	0,50	104	K-44	1,61	±	0,92
75	K-15	0,98	±	0,42	105	K-45	1,75	±	0,81
76	K-16	1,05	±	0,55	106	K-46	1,36	±	0,54
77	K-17	0,76	±	0,49	107	K-47	1,40	±	0,59
78	K-18	1,58	±	0,76	108	K-48	1,33	±	0,62
79	K-19	0,93	±	0,35	109	K-49	1,23	±	0,53
80	K-20	1,00	±	0,51	110	K-50	1,38	±	0,67
81	K-21	1,69	±	0,86	111	K-51	1,85	±	0,80
82	K-22	0,74	±	0,51	112	K-52	2,00	±	0,64
83	K-23	1,55	±	1,08	113	K-53	1,30	±	0,52
84	K-24	0,97	±	0,64	114	K-54	1,69	±	0,89
85	K-25	2,13	±	0,79	115	K-55	1,20	±	0,65
86	K-26	1,38	±	0,81	116	K-56	1,05	±	0,22
87	K-27	1,38	±	0,71	117	K-57	1,50	±	0,76
88	K-28	1,67	±	0,87	118	K-58	1,45	±	0,71
89	K-29	1,28	±	0,68	119	K-59	1,08	±	0,47
90	K-30	1,43	±	0,75	120	K-60	1,23	±	0,53

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	1,83	±	0,86	31	S-31	1,82	±	0,98
2	S-2	1,26	±	0,65	32	S-32	1,40	±	1,10
3	S-3	1,65	±	0,81	33	S-33	0,76	±	0,56
4	S-4	1,84	±	0,96	34	S-34	1,50	±	0,79
5	S-5	0,70	±	0,57	35	S-35	1,30	±	0,73
6	S-6	0,90	±	0,72	36	S-36	1,26	±	0,65
7	S-7	0,85	±	0,67	37	S-37	1,68	±	0,89
8	S-8	1,55	±	0,69	38	S-38	1,70	±	0,73
9	S-9	1,26	±	1,24	39	S-39	1,83	±	0,99
10	S-10	1,15	±	0,37	40	S-40	1,80	±	0,89
11	S-11	1,00	±	0,58	41	S-41	1,55	±	0,51
12	S-12	0,80	±	0,41	42	S-42	1,35	±	0,59
13	S-13	1,50	±	0,69	43	S-43	1,40	±	0,75
14	S-14	1,95	±	0,76	44	S-44	2,40	±	0,99
15	S-15	0,90	±	0,45	45	S-45	1,95	±	0,76
16	S-16	1,05	±	0,51	46	S-46	0,95	±	0,78
17	S-17	1,11	±	0,57	47	S-47	1,55	±	0,69
18	S-18	1,05	±	0,83	48	S-48	2,50	±	0,69
19	S-19	1,70	±	0,80	49	S-49	1,40	±	0,82
20	S-20	0,90	±	0,55	50	S-50	1,60	±	0,60
21	S-21	0,80	±	0,41	51	S-51	1,50	±	1,00
22	S-22	2,44	±	1,20	52	S-52	1,25	±	0,44
23	S-23	1,75	±	0,72	53	S-53	1,30	±	0,57
24	S-24	1,40	±	0,60	54	S-54	1,55	±	0,76
25	S-25	1,72	±	0,75	55	S-55	1,35	±	1,14
26	S-26	1,05	±	0,40	56	S-56	1,40	±	0,68
27	S-27	1,55	±	0,76	57	S-57	1,90	±	1,02
28	S-28	1,35	±	0,67	58	S-58	1,70	±	0,80
29	S-29	0,79	±	0,42	59	S-59	2,25	±	0,79
30	S-30	1,10	±	0,45	60	S-60	1,00	±	0,32

Tabela 1.3. Średni stopień porażenia 60 genotypów kukurydzy (MHR Kobierzycy) 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	0,70	±	0,47	31	K-31	1,70	±	0,80
2	K-2	2,50	±	0,95	32	K-32	2,26	±	0,65
3	K-3	1,90	±	0,79	33	K-33	1,89	±	0,66
4	K-4	1,60	±	0,75	34	K-34	1,50	±	0,51
5	K-5	1,55	±	1,00	35	K-35	1,79	±	0,92
6	K-6	1,55	±	0,69	36	K-36	1,95	±	0,69
7	K-7	1,20	±	0,41	37	K-37	1,40	±	0,82
8	K-8	2,53	±	1,22	38	K-38	0,50	±	0,61
9	K-9	1,10	±	0,45	39	K-39	2,50	±	1,19
10	K-10	1,20	±	0,62	40	K-40	1,00	±	0,65
11	K-11	2,60	±	0,50	41	K-41	2,11	±	0,47
12	K-12	3,15	±	0,49	42	K-42	2,10	±	0,72
13	K-13	0,85	±	0,49	43	K-43	1,95	±	0,76
14	K-14	1,44	±	0,51	44	K-44	2,15	±	0,88
15	K-15	1,15	±	0,37	45	K-45	1,55	±	0,76
16	K-16	1,30	±	0,57	46	K-46	1,35	±	0,49
17	K-17	0,80	±	0,52	47	K-47	1,40	±	0,50
18	K-18	2,06	±	0,64	48	K-48	1,55	±	0,60
19	K-19	1,00	±	0,00	49	K-49	1,35	±	0,59
20	K-20	1,21	±	0,42	50	K-50	1,40	±	0,75
21	K-21	2,20	±	0,77	51	K-51	2,35	±	0,49
22	K-22	0,67	±	0,49	52	K-52	1,90	±	0,64
23	K-23	2,45	±	0,69	53	K-53	1,40	±	0,50
24	K-24	0,75	±	0,44	54	K-54	2,21	±	0,98
25	K-25	2,60	±	0,75	55	K-55	1,15	±	0,59
26	K-26	1,80	±	0,89	56	K-56	1,05	±	0,22
27	K-27	1,70	±	0,66	57	K-57	1,70	±	0,80
28	K-28	1,95	±	1,08	58	K-58	1,55	±	0,69
29	K-29	1,60	±	0,82	59	K-59	1,20	±	0,62
30	K-30	1,90	±	0,72	60	K-60	1,45	±	0,69

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	1,25	±	0,55	31	S-31	1,11	±	0,32
2	S-2	1,08	±	0,76	32	S-32	1,05	±	0,71
3	S-3	1,57	±	1,28	33	S-33	1,20	±	0,41
4	S-4	1,35	±	0,67	34	S-34	1,18	±	0,40
5	S-5	1,00	±	0,00	35	S-35	1,29	±	0,59
6	S-6	1,00	±	0,35	36	S-36	1,70	±	0,86
7	S-7	1,18	±	0,40	37	S-37	1,30	±	0,47
8	S-8	0,90	±	0,32	38	S-38	1,39	±	0,78
9	S-9	0,93	±	0,59	39	S-39	0,94	±	0,24
10	S-10	0,71	±	0,61	40	S-40	1,37	±	0,60
11	S-11	0,85	±	0,49	41	S-41	1,30	±	0,47
12	S-12	1,05	±	0,39	42	S-42	0,74	±	0,45
13	S-13	1,40	±	0,50	43	S-43	1,13	±	0,64
14	S-14	1,67	±	0,49	44	S-44	0,30	±	0,47
15	S-15	1,33	±	0,82	45	S-45	1,30	±	0,73
16	S-16	1,23	±	0,60	46	S-46	1,00	±	0,78
17	S-17	1,21	±	0,71	47	S-47	1,31	±	0,48
18	S-18	1,33	±	0,62	48	S-48	1,58	±	0,84
19	S-19	1,90	±	0,72	49	S-49	1,20	±	0,63
20	S-20	0,80	±	0,41	50	S-50	1,44	±	0,63
21	S-21	0,95	±	0,22	51	S-51	1,55	±	0,60
22	S-22	0,82	±	0,40	52	S-52	1,40	±	0,75
23	S-23	0,88	±	0,33	53	S-53	1,15	±	0,37
24	S-24	1,60	±	0,68	54	S-54	1,25	±	0,71
25	S-25	1,15	±	0,49	55	S-55	1,29	±	0,49
26	S-26	1,45	±	0,60	56	S-56	1,86	±	0,86
27	S-27	1,79	±	0,92	57	S-57	1,41	±	0,71
28	S-28	1,25	±	0,55	58	S-58	1,30	±	0,57
29	S-29	0,95	±	0,23	59	S-59	1,25	±	0,44
30	S-30	1,05	±	0,22	60	S-60	1,20	±	0,41

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

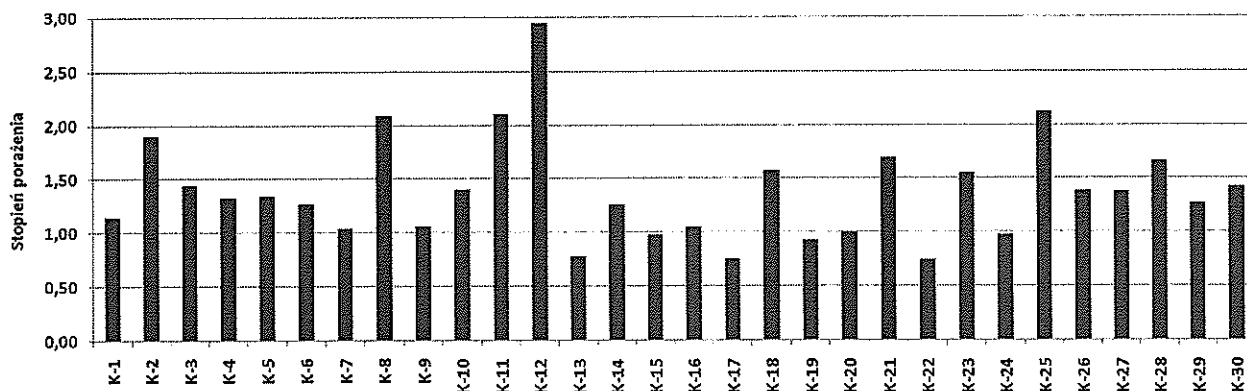
Lp	Genotyp	średni stopień porażenia			Lp	Genotyp	średni stopień porażenia		
1	K-1	1,85	±	0,80	31	K-31	1,16	±	0,37
2	K-2	1,30	±	0,57	32	K-32	1,10	±	0,31
3	K-3	0,94	±	0,24	33	K-33	1,37	±	0,60
4	K-4	1,05	±	0,22	34	K-34	1,35	±	0,75
5	K-5	1,11	±	0,68	35	K-35	1,40	±	0,60
6	K-6	1,00	±	0,00	36	K-36	1,30	±	0,57
7	K-7	0,50	±	0,84	37	K-37	1,25	±	0,55
8	K-8	1,46	±	0,66	38	K-38	1,00	±	0,00
9	K-9	1,00	±	0,00	39	K-39	1,35	±	0,49
10	K-10	1,60	±	0,60	40	K-40	1,06	±	0,24
11	K-11	0,88	±	0,35	41	K-41	1,10	±	0,31
12	K-12	2,75	±	0,64	42	K-42	1,82	±	0,95
13	K-13	0,70	±	0,47	43	K-43	0,23	±	0,44
14	K-14	1,10	±	0,45	44	K-44	1,00	±	0,49
15	K-15	0,80	±	0,41	45	K-45	1,95	±	0,83
16	K-16	0,80	±	0,41	46	K-46	1,38	±	0,62
17	K-17	0,71	±	0,47	47	K-47	1,40	±	0,68
18	K-18	1,15	±	0,59	48	K-48	1,10	±	0,55
19	K-19	0,85	±	0,49	49	K-49	1,10	±	0,45
20	K-20	0,69	±	0,48	50	K-50	1,35	±	0,59
21	K-21	1,06	±	0,44	51	K-51	1,35	±	0,75
22	K-22	0,85	±	0,55	52	K-52	2,10	±	0,64
23	K-23	0,65	±	0,49	53	K-53	1,20	±	0,52
24	K-24	1,24	±	0,75	54	K-54	1,20	±	0,41
25	K-25	1,65	±	0,49	55	K-55	1,25	±	0,72
26	K-26	0,95	±	0,40	56	K-56	1,05	±	0,22
27	K-27	0,83	±	0,39	57	K-57	1,28	±	0,67
28	K-28	1,40	±	0,50	58	K-58	1,35	±	0,75
29	K-29	0,95	±	0,22	59	K-59	0,95	±	0,22
30	K-30	0,95	±	0,39	60	K-60	1,00	±	0,00

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

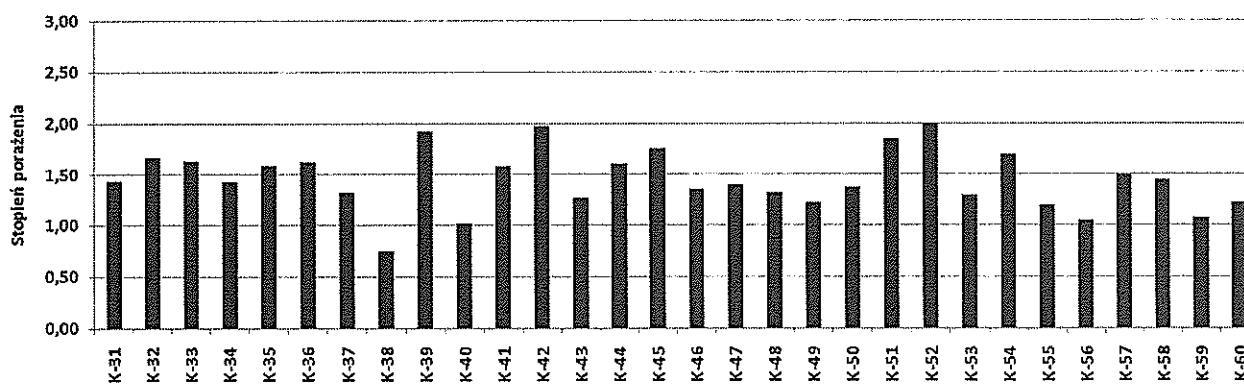
Lp	Genotyp	średni stopień porażenia				Lp	Genotyp	średni stopień porażenia			
1	S-1	1,53	±	0,76	o-x	31	S-31	1,38	±	0,73	i-t
2	S-2	1,19	±	0,69	b-n	32	S-32	1,23	±	0,93	c-o
3	S-3	1,62	±	1,02	r-x	33	S-33	1,00	±	0,53	a-h
4	S-4	1,59	±	0,85	r-x	34	S-34	1,38	±	0,68	i-t
5	S-5	0,85	±	0,43	a	35	S-35	1,30	±	0,66	e-r
6	S-6	0,95	±	0,57	a-d	36	S-36	1,49	±	0,79	m-w
7	S-7	0,97	±	0,60	a-g	37	S-37	1,49	±	0,72	m-w
8	S-8	1,33	±	0,66	h-t	38	S-38	1,55	±	0,76	p-x
9	S-9	1,12	±	1,01	a-k	39	S-39	1,39	±	0,84	j-t
10	S-10	0,97	±	0,52	a-e	40	S-40	1,59	±	0,79	r-x
11	S-11	0,92	±	0,53	a-c	41	S-41	1,43	±	0,50	k-t
12	S-12	0,93	±	0,42	a-c	42	S-42	1,05	±	0,60	a-i
13	S-13	1,45	±	0,60	l-u	43	S-43	1,29	±	0,71	e-r
14	S-14	1,82	±	0,65	x-y	44	S-44	1,35	±	1,31	i-s
15	S-15	1,09	±	0,66	a-j	45	S-45	1,63	±	0,81	s-x
16	S-16	1,12	±	0,55	a-l	46	S-46	0,97	±	0,77	a-g
17	S-17	1,16	±	0,64	a-l	47	S-47	1,45	±	0,62	k-u
18	S-18	1,17	±	0,75	a-m	48	S-48	2,05	±	0,89	y
19	S-19	1,80	±	0,76	w-y	49	S-49	1,33	±	0,76	h-t
20	S-20	0,85	±	0,48	a	50	S-50	1,53	±	0,61	n-x
21	S-21	0,88	±	0,33	a-b	51	S-51	1,53	±	0,82	o-x
22	S-22	1,83	±	1,26	w-y	52	S-52	1,33	±	0,62	i-s
23	S-23	1,35	±	0,72	i-t	53	S-53	1,23	±	0,48	c-o
24	S-24	1,50	±	0,64	n-x	54	S-54	1,46	±	0,74	k-w
25	S-25	1,42	±	0,68	k-t	55	S-55	1,33	±	1,00	f-t
26	S-26	1,26	±	0,55	d-p	56	S-56	1,59	±	0,78	r-x
27	S-27	1,67	±	0,84	t-x	57	S-57	1,68	±	0,91	t-x
28	S-28	1,30	±	0,61	f-r	58	S-58	1,50	±	0,72	n-x
29	S-29	0,87	±	0,34	a-b	59	S-59	1,75	±	0,81	u-y
30	S-30	1,08	±	0,35	a-j	60	S-60	1,10	±	0,38	a-j

Tabela 1.7. Stopień porażenia genotypów kukurydzy przez *F.temperatum*, wartości średnie dla materiałów hodowli Kobierzycze z wyróżnionymi grupami jednorodnymi, dla form Flint (K1- K30) i Dent (K31- K60), na podstawie oceny przeprowadzonej w Kobierzycach i Radzikowie

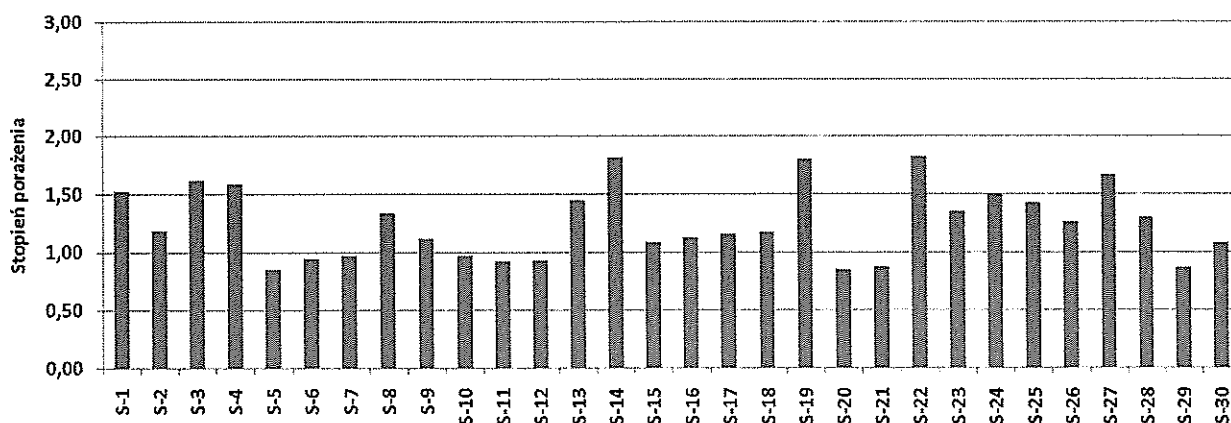
Lp	Genotyp	średni stopień porażenia				Lp	Genotyp	średni stopień porażenia			
1	K-1	1,15	±	0,83	c-i	31	K-31	1,44	±	0,68	i-p
2	K-2	1,90	±	0,98	t-y	32	K-32	1,67	±	0,77	o-w
3	K-3	1,45	±	0,76	i-r	33	K-33	1,63	±	0,67	n-u
4	K-4	1,33	±	0,62	e-n	34	K-34	1,43	±	0,64	i-p
5	K-5	1,34	±	0,88	f-n	35	K-35	1,59	±	0,79	l-t
6	K-6	1,28	±	0,55	d-k	36	K-36	1,63	±	0,70	n-u
7	K-7	1,04	±	0,60	a-h	37	K-37	1,33	±	0,69	e-n
8	K-8	2,09	±	1,15	y	38	K-38	0,75	±	0,49	a
9	K-9	1,06	±	0,35	a-h	39	K-39	1,93	±	1,07	u-y
10	K-10	1,40	±	0,63	i-p	40	K-40	1,03	±	0,49	a-f
11	K-11	2,11	±	0,92	y	41	K-41	1,58	±	0,64	k-s
12	K-12	2,95	±	0,60	z	42	K-42	1,97	±	0,83	w-y
13	K-13	0,78	±	0,48	a-b	43	K-43	1,27	±	1,07	d-l
14	K-14	1,26	±	0,50	d-k	44	K-44	1,61	±	0,92	m-t
15	K-15	0,98	±	0,42	a-d	45	K-45	1,75	±	0,81	r-x
16	K-16	1,05	±	0,55	a-g	46	K-46	1,36	±	0,54	g-o
17	K-17	0,76	±	0,49	a	47	K-47	1,40	±	0,59	i-p
18	K-18	1,58	±	0,76	k-s	48	K-48	1,33	±	0,62	e-n
19	K-19	0,93	±	0,35	a-c	49	K-49	1,23	±	0,53	c-j
20	K-20	1,00	±	0,51	a-e	50	K-50	1,38	±	0,67	h-o
21	K-21	1,69	±	0,86	p-x	51	K-51	1,85	±	0,80	s-y
22	K-22	0,74	±	0,51	a	52	K-52	2,00	±	0,64	x-y
23	K-23	1,55	±	1,08	k-s	53	K-53	1,30	±	0,52	e-m
24	K-24	0,97	±	0,64	a-d	54	K-54	1,69	±	0,89	p-x
25	K-25	2,13	±	0,79	y	55	K-55	1,20	±	0,65	c-j
26	K-26	1,38	±	0,81	h-p	56	K-56	1,05	±	0,22	a-g
27	K-27	1,38	±	0,71	g-p	57	K-57	1,50	±	0,76	j-r
28	K-28	1,67	±	0,87	o-w	58	K-58	1,45	±	0,71	i-r
29	K-29	1,28	±	0,68	d-k	59	K-59	1,08	±	0,47	b-h
30	K-30	1,43	±	0,75	i-p	60	K-60	1,23	±	0,53	c-j



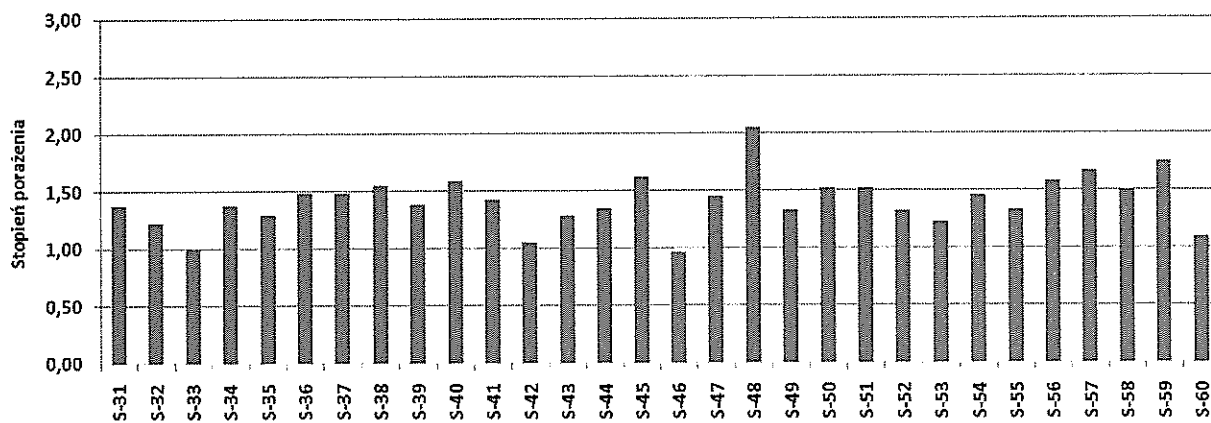
Rycina 1.1. Średni stopień porażenia genotypów kukurydzy (formy flint) hodowli MHR Koberzyce przez *Fusarium temperatum*



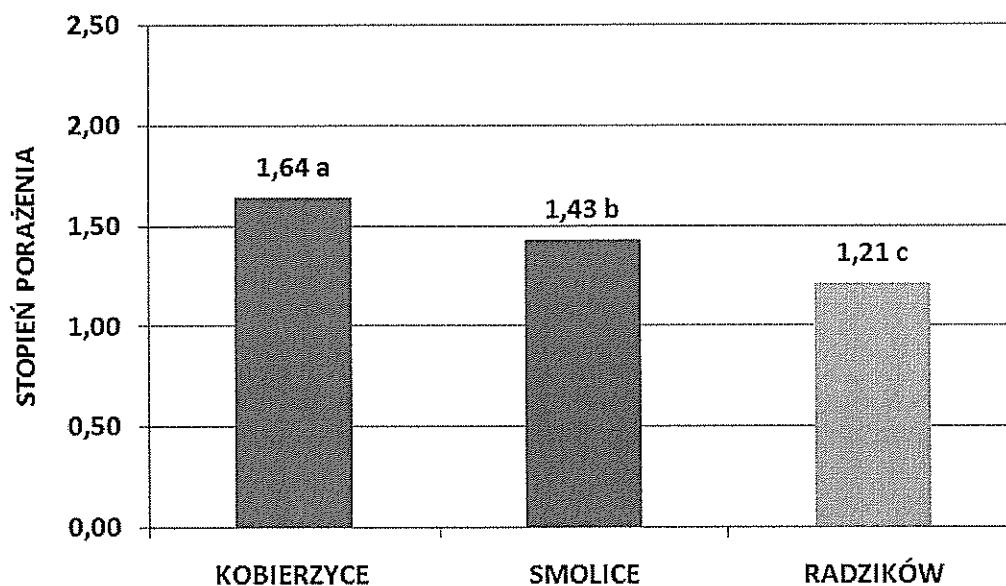
Rycina 1.2. Średni stopień porażenia genotypów kukurydzy (formy dent) hodowli MHR Koberzyce przez *Fusarium temperatum*



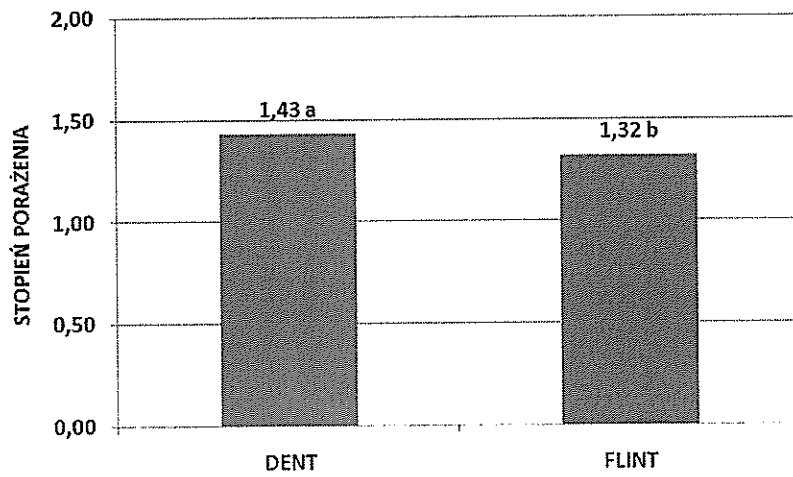
Rycina 1.3. Średni stopień porażenia genotypów kukurydzy (formy flint) hodowli HRS Smolice przez *Fusarium temperatum*



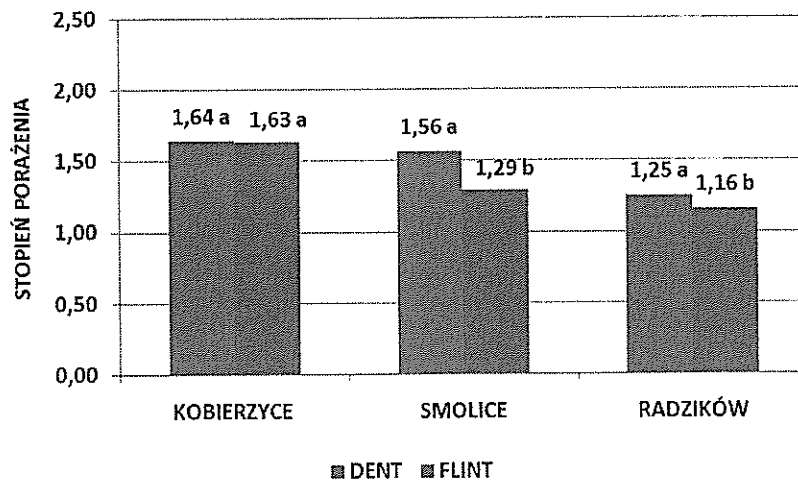
Rycina 1.4. Średni stopień porażenia genotypów kukurydzy (formy dent) hodowli HRS Smolice przez *Fusarium temperatum*



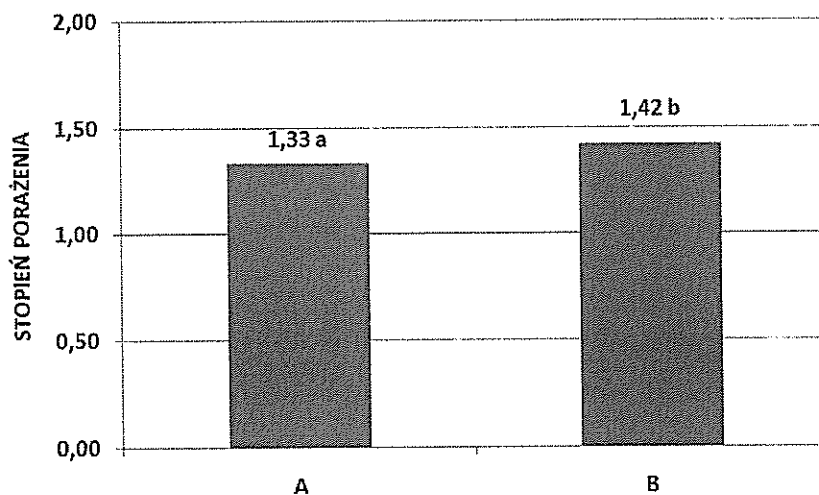
Rycina 1.5. Średni stopień porażenia badanych genotypów kukurydzy przez *Fusarium temperatum* w trzech lokalizacjach



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)

4.2. 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/amylozy.

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 amylozy/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 2019 roku był podobny do schematu badań z poprzednich lat (2015-2018).

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).

Przeprowadzono analizy wybranych prób (160), pochodzących z ziarniaków porażonych z wybranych (80) genotypów kukurydzy, z każdej (2) lokalizacji badań.

Badania Scaufaire i in. (2012) wskazują, że *F.temperatum* posiada zdolność biosyntezy bowerycyny. Dane na temat możliwości biosyntezy innych mykotoksyn są niejednoznaczne, wskazują na jakościową zmienność w populacji gatunku. Procedury analizy mykotoksyn oraz ergosterolu były 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 amylozy/amylopektyn

Analizę zawartości amylopektyn/amylozy w skrobi przeprowadzano wykorzystując do tego celu „Megazyme assay kit”. W teście tym badaną próbkę 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 40 wybranych genotypów hodowli MHR Kobierzyce i 40 wybranych genotypów hodowli HRS Smolice. Ogółem pod kątem zawartości amylozy przebadano 160 prób ziarniaków wybranych genotypów kukurydzy pochodzących z doświadczeń założonych na terenie pól doświadczalnych Hodowli Roślin Smolice (40 prób) Sp. z o. o. Grupa IHAR oraz Małopolskiej Hodowli Roślin, oddział w Kobierzycach (40 prób) oraz Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin IHAR- PIB, Radzików (80 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 21,52% (dla genotypu K-12) do 32,91% w przypadku genotypu o numerze kodowym K-2, natomiast w przypadku ziarniaków typu dent od 20,94% (K-39) do 34,28% (K-47).
- 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 24,23% (S-1) do 36,77% (S-5), a w przypadku form kukurydzy typu dent od 20,67% (S-57) do 29,86% (S-55).
- 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 22,13% (dla genotypu K-12) do 38,06% w przypadku genotypu o numerze kodowym K-25, natomiast w przypadku ziarniaków typu dent od 22,59% (genotyp K-32) do 36,65% (genotyp K-50).
- 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 21,52% (dla genotypu S-18) do

36,56% w przypadku genotypu o numerze kodowym S-1, natomiast w przypadku ziarniaków typu dent od 20,87% (genotyp S-51) do 35,90% (genotyp S - 34).

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 odpowiednio 26,66% i 29,26% i różnica ta była statystycznie istotna ($F=60,35$ $p=0,0000$).
- Udział amylozy w strukturze skrobi ziarniaków form dent i flint, materiałów pochodzących z Hodowli MHR Kobierzyce wynosił odpowiednio 28,07% i 28,66%, tym samym różnica ta nie była istotna statystycznie ($F=2,99$ $p=0,0838$). Poziom istotności $\alpha=0,05$.

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 lokalizacji doświadczenia w Smolicach. Udział amylozy w ziarniakach form dent i flint w Smolicach wynosił odpowiednio 25,03% i 30,00% ($F=180,97$ $p=0,0000$). Natomiast w dwóch pozostałych lokalizacjach doświadczeń tj. Kobierzyce i Radzików, udział amylozy w ziarniakach form flint był wyższy niż dent, jednak różnica ta nie była istotna statystycznie. Udział amylozy w ziarniakach form dent i flint w Kobierzycach wynosił odpowiednio 26,77% i 26,78% ($F=0,00$ $p=0,9795$) oraz w Radzikowie 28,83% i 29,52% ($F=3,61$ $p=0,0574$). Poziom istotności $\alpha=0,05$.

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	25,47	±	0,74	f-g
2	K-2	Kobierzyce	Flint	32,91	±	0,60	r
3	K-5	Kobierzyce	Flint	24,58	±	1,03	e
4	K-6	Kobierzyce	Flint	26,43	±	0,53	i
5	K-7	Kobierzyce	Flint	24,87	±	1,14	e-f
6	K-8	Kobierzyce	Flint	27,01	±	0,61	i-j
7	K-9	Kobierzyce	Flint	26,37	±	0,48	h-i
8	K-10	Kobierzyce	Flint	30,84	±	1,34	p
9	K-11	Kobierzyce	Flint	23,62	±	0,60	d
10	K-12	Kobierzyce	Flint	21,52	±	0,34	a-b
11	K-13	Kobierzyce	Flint	28,94	±	0,93	k-m
12	K-14	Kobierzyce	Flint	21,71	±	0,65	b
13	K-15	Kobierzyce	Flint	29,27	±	0,64	k-n
14	K-16	Kobierzyce	Flint	29,75	±	0,56	n-o
15	K-17	Kobierzyce	Flint	29,60	±	1,15	l-o
16	K-19	Kobierzyce	Flint	25,32	±	0,60	e-g
17	K-20	Kobierzyce	Flint	22,67	±	0,84	c
18	K-22	Kobierzyce	Flint	29,27	±	1,09	k-n
19	K-24	Kobierzyce	Flint	28,84	±	0,55	k-l
20	K-25	Kobierzyce	Flint	26,63	±	1,00	i

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-32	Kobierzyce	Dent	29,70	±	0,81	m-o
2	K-34	Kobierzyce	Dent	30,34	±	1,00	o-p
3	K-37	Kobierzyce	Dent	25,54	±	0,77	f-g
4	K-38	Kobierzyce	Dent	27,48	±	0,42	j
5	K-39	Kobierzyce	Dent	20,94	±	0,48	a
6	K-40	Kobierzyce	Dent	25,64	±	0,41	g-h
7	K-44	Kobierzyce	Dent	23,42	±	0,47	c-d
8	K-45	Kobierzyce	Dent	25,44	±	0,64	f-g
9	K-46	Kobierzyce	Dent	21,81	±	0,31	b
10	K-47	Kobierzyce	Dent	34,28	±	2,06	s
11	K-49	Kobierzyce	Dent	33,14	±	0,77	r
12	K-50	Kobierzyce	Dent	31,00	±	0,48	p
13	K-51	Kobierzyce	Dent	23,28	±	0,51	c-d
14	K-53	Kobierzyce	Dent	28,90	±	0,77	k-l
15	K-54	Kobierzyce	Dent	24,64	±	0,32	e
16	K-55	Kobierzyce	Dent	23,26	±	0,39	c-d
17	K-56	Kobierzyce	Dent	28,67	±	0,36	k
18	K-58	Kobierzyce	Dent	23,65	±	0,38	d
19	K-59	Kobierzyce	Dent	29,49	±	0,77	l-n
20	K-60	Kobierzyce	Dent	24,79	±	0,48	e-f

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			
					±		
1	S-1	Smolice	Flint	24,23	±	2,13	e-g
2	S-4	Smolice	Flint	27,88	±	0,36	l-n
3	S-5	Smolice	Flint	36,77	±	0,80	y
4	S-6	Smolice	Flint	32,02	±	0,64	u-w
5	S-7	Smolice	Flint	33,75	±	1,89	x
6	S-10	Smolice	Flint	31,65	±	0,61	t-w
7	S-11	Smolice	Flint	32,50	±	0,77	w
8	S-12	Smolice	Flint	31,10	±	0,58	t-u
9	S-14	Smolice	Flint	30,80	±	0,52	s-t
10	S-15	Smolice	Flint	31,58	±	0,77	t-w
11	S-16	Smolice	Flint	33,85	±	0,59	x
12	S-17	Smolice	Flint	28,25	±	0,60	m-o
13	S-18	Smolice	Flint	32,10	±	0,48	w
14	S-20	Smolice	Flint	32,38	±	0,58	w
15	S-21	Smolice	Flint	24,71	±	0,69	f-h
16	S-22	Smolice	Flint	25,24	±	0,65	h-i
17	S-23	Smolice	Flint	25,86	±	0,32	i-j
18	S-26	Smolice	Flint	28,51	±	0,61	n-p
19	S-29	Smolice	Flint	29,39	±	2,61	p-r
20	S-30	Smolice	Flint	27,52	±	0,65	l-m

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-32	Smolice	Dent	24,04	±	0,47	e-g
2	S-33	Smolice	Dent	29,23	±	0,63	p-r
3	S-34	Smolice	Dent	26,25	±	0,68	j-k
4	S-35	Smolice	Dent	28,13	±	0,67	m-n
5	S-36	Smolice	Dent	29,43	±	1,46	p-r
6	S-42	Smolice	Dent	21,78	±	0,41	b
7	S-43	Smolice	Dent	22,36	±	0,68	b-c
8	S-44	Smolice	Dent	22,79	±	0,61	c-d
9	S-45	Smolice	Dent	23,46	±	1,04	d-e
10	S-46	Smolice	Dent	24,38	±	1,44	e-h
11	S-48	Smolice	Dent	20,78	±	0,70	a
12	S-49	Smolice	Dent	26,99	±	0,74	k-l
13	S-51	Smolice	Dent	23,79	±	0,52	e-f
14	S-52	Smolice	Dent	28,19	±	1,39	m-o
15	S-53	Smolice	Dent	22,31	±	0,70	b-c
16	S-55	Smolice	Dent	29,86	±	1,22	r-s
17	S-56	Smolice	Dent	24,86	±	0,82	g-h
18	S-57	Smolice	Dent	20,67	±	0,33	a
19	S-59	Smolice	Dent	29,13	±	1,40	o-r
20	S-60	Smolice	Dent	22,21	±	0,20	b-c

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	26,88	±	1,24	d-f
2	K-2	Radzików	Flint	28,66	±	0,39	i-j
3	K-5	Radzików	Flint	33,50	±	1,48	m-n
4	K-6	Radzików	Flint	27,06	±	0,75	e-g
5	K-7	Radzików	Flint	34,47	±	0,47	n-o
6	K-8	Radzików	Flint	29,93	±	0,53	k
7	K-9	Radzików	Flint	24,77	±	1,36	b
8	K-10	Radzików	Flint	33,49	±	0,83	m-n
9	K-11	Radzików	Flint	31,56	±	0,75	l
10	K-12	Radzików	Flint	22,13	±	1,72	a
11	K-13	Radzików	Flint	30,34	±	3,65	k
12	K-14	Radzików	Flint	26,72	±	0,64	d-f
13	K-15	Radzików	Flint	31,58	±	0,62	l
14	K-16	Radzików	Flint	33,40	±	0,72	m
15	K-17	Radzików	Flint	35,47	±	0,79	o-r
16	K-19	Radzików	Flint	26,45	±	0,30	d-e
17	K-20	Radzików	Flint	36,63	±	1,07	s
18	K-22	Radzików	Flint	29,50	±	1,24	j-k
19	K-24	Radzików	Flint	30,03	±	0,59	k
20	K-25	Radzików	Flint	38,06	±	1,03	t

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

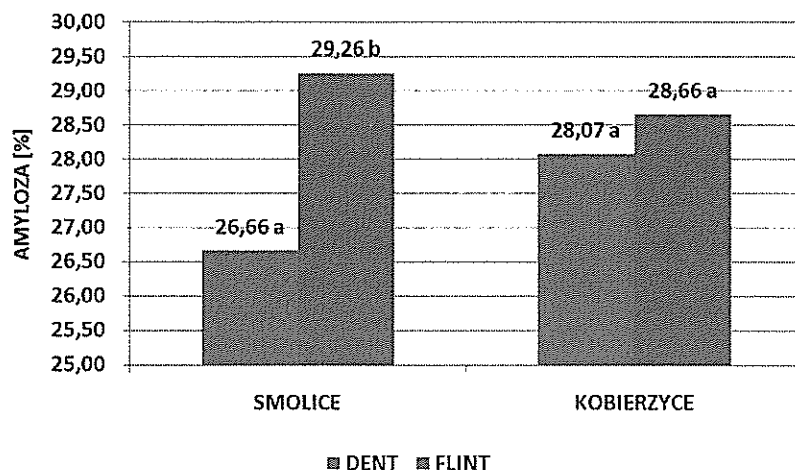
Lp	Numer	Miejsce	Typ	Amyloza			
					±		
1	K-32	Radzików	Dent	22,59	±	0,58	a
2	K-34	Radzików	Dent	28,36	±	0,95	h-i
3	K-37	Radzików	Dent	36,41	±	1,56	r-s
4	K-38	Radzików	Dent	36,49	±	1,08	r-s
5	K-39	Radzików	Dent	33,21	±	0,95	m
6	K-40	Radzików	Dent	28,68	±	0,58	i-j
7	K-44	Radzików	Dent	28,07	±	0,54	g-i
8	K-45	Radzików	Dent	35,63	±	1,54	p-s
9	K-46	Radzików	Dent	26,87	±	0,25	d-f
10	K-47	Radzików	Dent	26,79	±	0,26	d-f
11	K-49	Radzików	Dent	25,34	±	0,63	b-c
12	K-50	Radzików	Dent	36,65	±	1,14	s
13	K-51	Radzików	Dent	25,88	±	0,86	c-d
14	K-53	Radzików	Dent	28,44	±	0,48	i
15	K-54	Radzików	Dent	25,24	±	0,74	b-c
16	K-55	Radzików	Dent	22,87	±	0,53	a
17	K-56	Radzików	Dent	30,21	±	0,41	k
18	K-58	Radzików	Dent	27,36	±	0,96	e-h
19	K-59	Radzików	Dent	34,81	±	0,78	o-p
20	K-60	Radzików	Dent	27,64	±	0,59	f-i

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

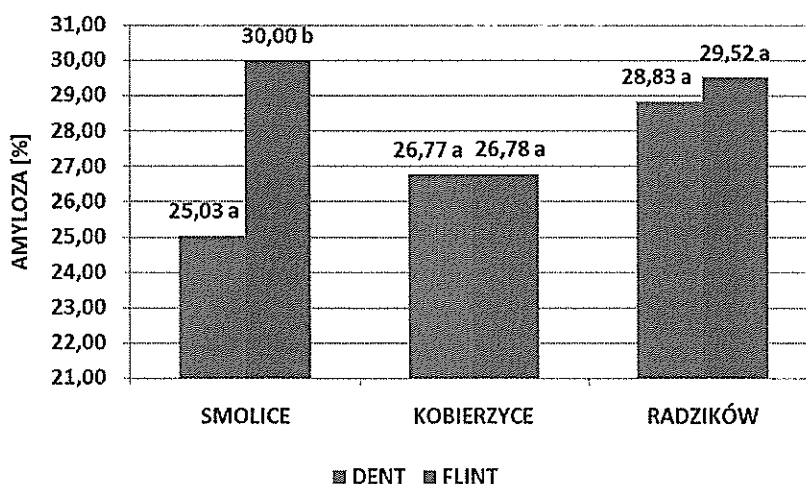
Lp	Numer	Miejsce	Typ	Amyloza			
					±		
1	S-1	Radzików	Flint	36,56	±	0,93	u
2	S-4	Radzików	Flint	28,72	±	0,75	h-i
3	S-5	Radzików	Flint	29,37	±	0,55	i-k
4	S-6	Radzików	Flint	29,02	±	0,83	h-j
5	S-7	Radzików	Flint	25,44	±	0,29	f
6	S-10	Radzików	Flint	24,32	±	0,99	d-e
7	S-11	Radzików	Flint	28,99	±	0,60	h-j
8	S-12	Radzików	Flint	36,18	±	1,41	t-u
9	S-14	Radzików	Flint	29,24	±	0,86	i-k
10	S-15	Radzików	Flint	23,48	±	0,65	b-d
11	S-16	Radzików	Flint	22,64	±	0,52	b
12	S-17	Radzików	Flint	29,97	±	0,58	k-m
13	S-18	Radzików	Flint	21,52	±	0,62	a
14	S-20	Radzików	Flint	34,65	±	0,87	r-s
15	S-21	Radzików	Flint	23,07	±	0,46	b-c
16	S-22	Radzików	Flint	32,06	±	1,04	o
17	S-23	Radzików	Flint	33,21	±	0,99	p
18	S-26	Radzików	Flint	22,91	±	0,33	b
19	S-29	Radzików	Flint	30,58	±	0,31	m-n
20	S-30	Radzików	Flint	28,23	±	0,51	h

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-32	Radzików	Dent	33,83	±	1,18	p-r
2	S-33	Radzików	Dent	24,31	±	0,99	d-e
3	S-34	Radzików	Dent	35,90	±	0,74	t-u
4	S-35	Radzików	Dent	23,95	±	0,46	c-e
5	S-36	Radzików	Dent	30,46	±	1,22	l-n
6	S-42	Radzików	Dent	23,35	±	0,86	b-c
7	S-43	Radzików	Dent	21,59	±	1,27	a
8	S-44	Radzików	Dent	33,32	±	1,26	p
9	S-45	Radzików	Dent	35,34	±	1,82	s-t
10	S-46	Radzików	Dent	32,27	±	1,60	o
11	S-48	Radzików	Dent	29,70	±	1,18	j-m
12	S-49	Radzików	Dent	24,40	±	0,56	e
13	S-51	Radzików	Dent	20,87	±	0,45	a
14	S-52	Radzików	Dent	30,93	±	0,77	n
15	S-53	Radzików	Dent	21,40	±	0,33	a
16	S-55	Radzików	Dent	29,62	±	1,24	j-l
17	S-56	Radzików	Dent	26,28	±	0,64	f-g
18	S-57	Radzików	Dent	26,96	±	0,87	g
19	S-59	Radzików	Dent	31,90	±	0,86	o
20	S-60	Radzików	Dent	29,28	±	1,01	i-k



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, dla wybranych 80 genotypów HRS Smolice i 80 genotypów MHR Kobierzyce, pochodzących z doświadczeń założonych na terenie pól doświadczalnych Hodowli Roślin Smolice (40 prób) Sp. z o. o. Grupa IHAR oraz Małopolskiej Hodowli Roślin oddział w Kobierzycach (40 prób) oraz Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin IHAR - PIB Radzików (80 prób). Łącznie analizami pod kątem metabolitów *F.temperatum* objęto 160 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 5,36 ppm i wahała się od 0,72 do 12,60 ppm

- Radzikowie wynosiła 0,94 ppm i wahała się od 0,24 do 2,38 ppm
- w próbach kukurydzy typu flint pochodzących z doświadczenia zrealizowanego w:
 - Smolicach wynosiła 9,17 ppm i wahała się od 1,60 do 25,05 ppm
 - Radzikowie wynosiła 2,26 ppm i wahała się od 0,19 do 14,48ppm

W materiałach hodowli Kobierzyce średnia zawartość BEA:

- w próbach kukurydzy typu dent pochodzących z doświadczenia zrealizowanego w:
 - Kobierzycach wynosiła 3,81 ppm i wahała się od 0,56 do 13,64 ppm
 - Radzikowie wynosiła 1,49 ppm i wahała się od 0,28 do 6,71 ppm
- w próbach kukurydzy typu flint pochodzących z doświadczenia zrealizowanego w:
 - Kobierzycach wynosiła 7,56 ppm i wahała się od 0,95 do 22,17 ppm
 - Radzikowie wynosiła 2,16 ppm i wahała się od 0,46 do 10,12 ppm.

W materiałach hodowli Smolice średnia zawartość ergosterolu (ERG):

- w próbach kukurydzy typu dent pochodzących z doświadczenia zrealizowanego w:
 - Smolicach wynosiła 20,15 ppm i wahała się od 5,83 do 45,70 ppm
 - Radzikowie wynosiła 8,26 ppm i wahała się od 3,55 do 18,58 ppm
- w próbach kukurydzy typu flint pochodzących z doświadczenia zrealizowanego w:
 - Smolicach wynosiła 24,15 ppm i wahała się od 3,85 do 75,18 ppm
 - Radzikowie wynosiła 12,18 ppm i wahała się od 3,75 do 31,10 ppm

W materiałach hodowli Kobierzyce średnia zawartość ergosterolu:

- w próbach kukurydzy typu dent pochodzących z doświadczenia zrealizowanego w:
 - Kobierzycach wynosiła 24,51 ppm i wahała się od 5,35 do 83,88 ppm
 - Radzikowie wynosiła 11,16 ppm i wahała się od 4,13 do 44,38 ppm
- w próbach kukurydzy typu flint pochodzących z doświadczenia zrealizowanego w:
 - Kobierzycach wynosiła 31,02 ppm i wahała się od 4,77 do 104,33 ppm
 - Radzikowie wynosiła 13,57 ppm i wahała się od 3,28 do 63,90 ppm.

Wzrastająca zawartość ergosterolu była skorelowana z poziomem bowerycyny w ziarniakach kukurydzy. Równania regresji opisujące zależność pomiędzy zawartością ergosterolu, a zawartością bowerycyny w ziarniakach materiałów hodowlanych pochodzących ze Smolice i z Kobierzyc, wskazują na wprostproporcjonalną zależność pomiędzy wyżej wymienionymi metabolitami, w trzech lokalizacjach doświadczeń, w 2019 roku (Ryc. 2,3-2,4).

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	75,18	20,00	9,35	1,34
2	S-4	66,05	18,56	13,18	0,90
3	S-5	11,85	5,40	5,78	0,24
4	S-6	9,40	4,40	6,85	0,53
5	S-7	9,93	4,24	14,85	3,53
6	S-10	22,45	5,08	8,40	0,59
7	S-11	19,53	17,26	4,43	0,22
8	S-12	16,55	7,69	12,88	1,96
9	S-14	69,10	25,05	23,38	7,73
10	S-15	7,73	3,60	5,43	0,19
11	S-16	3,85	1,60	13,10	2,75
12	S-17	11,98	6,80	24,08	1,36
13	S-18	15,25	7,28	29,05	3,88
14	S-20	7,68	2,80	6,00	0,65
15	S-21	11,13	7,90	3,75	0,49
16	S-22	53,45	16,06	7,70	1,29
17	S-23	17,00	9,21	4,23	0,41
18	S-26	22,55	9,59	31,10	14,48
19	S-29	11,58	7,28	8,88	1,67
20	S-30	20,80	3,59	11,23	1,05
21	S-32	16,03	3,26	9,80	--
22	S-33	7,33	1,00	7,60	--
23	S-34	18,58	2,92	4,53	0,24
24	S-35	13,03	0,72	6,10	--
25	S-36	--	--	7,60	2,25
26	S-42	21,58	5,62	12,20	--
27	S-43	14,18	2,69	10,43	0,96
28	S-44	45,70	12,60	3,55	0,48
29	S-45	35,50	8,07	7,75	0,41
30	S-46	11,95	2,25	6,80	0,72

- 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-48	34,68	7,38	11,03	1,68
32	S-49	32,70	11,66	6,38	0,52
33	S-51	20,78	5,67	10,10	1,00
34	S-52	8,83	1,60	5,03	--
35	S-53	13,20	3,75	4,33	--
36	S-55	22,05	5,40	9,35	0,32
37	S-56	18,83	8,90	18,58	2,38
38	S-57	27,15	11,07	12,30	1,14
39	S-59	35,10	6,32	6,15	0,48
40	S-60	5,83	0,98	5,55	0,64

- 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

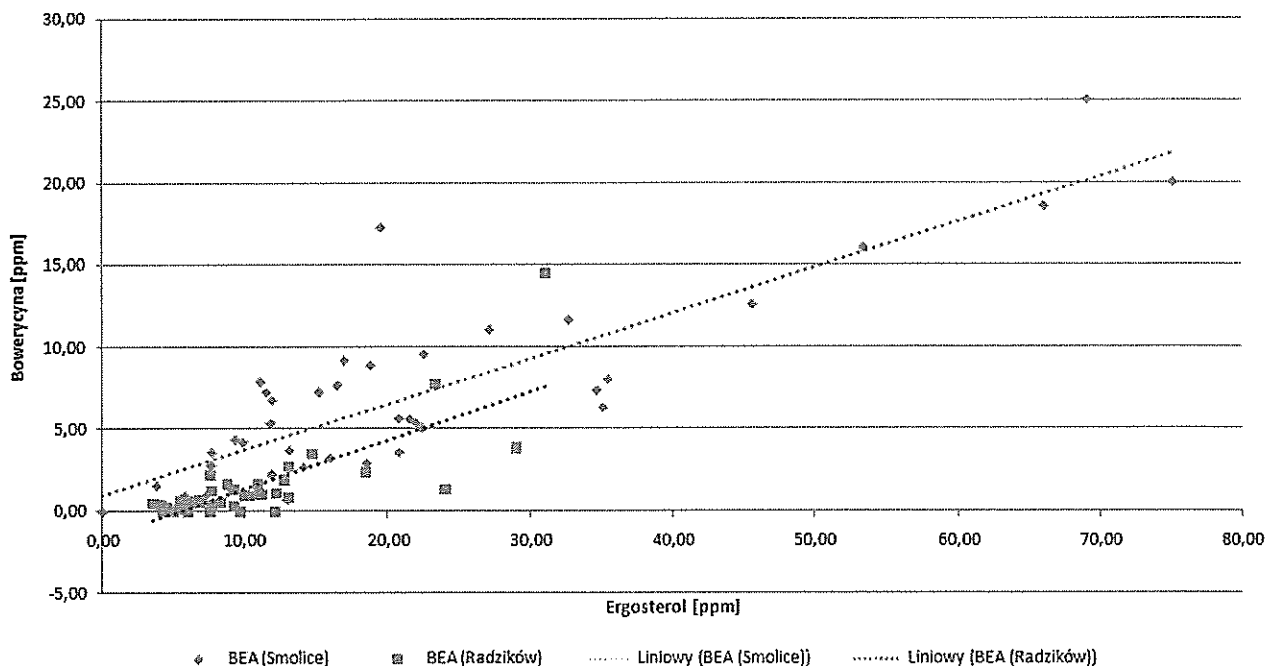
L.p.	Hodowla Kobierzyce	Doświadczenie Kobierzyce		Doświadczenie Radzików	
	Genotyp	ERG [ppm]	BEA [ppm]	ERG [ppm]	BEA [ppm]
1	K-1	27,03	8,49	11,98	0,96
2	K-2	42,25	9,32	15,13	2,04
3	K-5	60,23	4,28	10,90	0,46
4	K-6	24,95	11,12	10,23	0,48
5	K-7	23,28	3,77	33,20	5,16
6	K-8	44,63	6,89	21,40	2,11
7	K-9	11,68	2,18	6,38	0,64
8	K-10	18,78	8,18	8,98	4,54
9	K-11	51,48	14,33	4,13	0,69
10	K-12	104,33	21,71	63,90	10,12
11	K-13	12,58	0,95	6,20	0,62
12	K-14	25,40	2,30	9,90	2,12
13	K-15	4,77	--	4,68	1,20
14	K-16	16,63	5,10	5,65	3,46
15	K-17	48,33	22,17	7,43	2,66
16	K-19	14,00	1,81	7,95	0,77
17	K-20	7,28	3,24	3,28	1,02
18	K-22	22,38	3,71	11,70	1,65
19	K-24	23,03	4,28	16,88	1,25
20	K-25	37,40	9,90	11,63	1,18
21	K-32	28,58	4,98	10,68	1,52
22	K-34	24,60	7,25	20,25	4,76
23	K-37	16,38	0,82	8,00	0,32
24	K-38	7,55	0,74	5,08	0,56
25	K-39	83,88	13,64	12,90	1,72
26	K-40	12,98	0,85	5,18	0,84
27	K-44	38,88	10,72	5,25	1,48
28	K-45	22,48	2,62	44,38	6,71
29	K-46	28,98	3,84	14,85	2,32
30	K-47	32,70	3,68	17,53	0,28

- 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-49	13,18	1,18	4,13	2,52
32	K-50	14,63	0,56	9,23	0,38
33	K-51	44,50	5,34	14,03	0,65
34	K-53	18,28	2,54	9,65	0,59
35	K-54	39,73	7,82	9,40	0,96
36	K-55	5,35	--	4,95	1,74
37	K-56	8,78	0,96	8,90	0,50
38	K-58	22,18	1,66	7,38	0,92
39	K-59	14,90	1,84	6,18	0,46
40	K-60	11,70	1,28	5,20	0,48

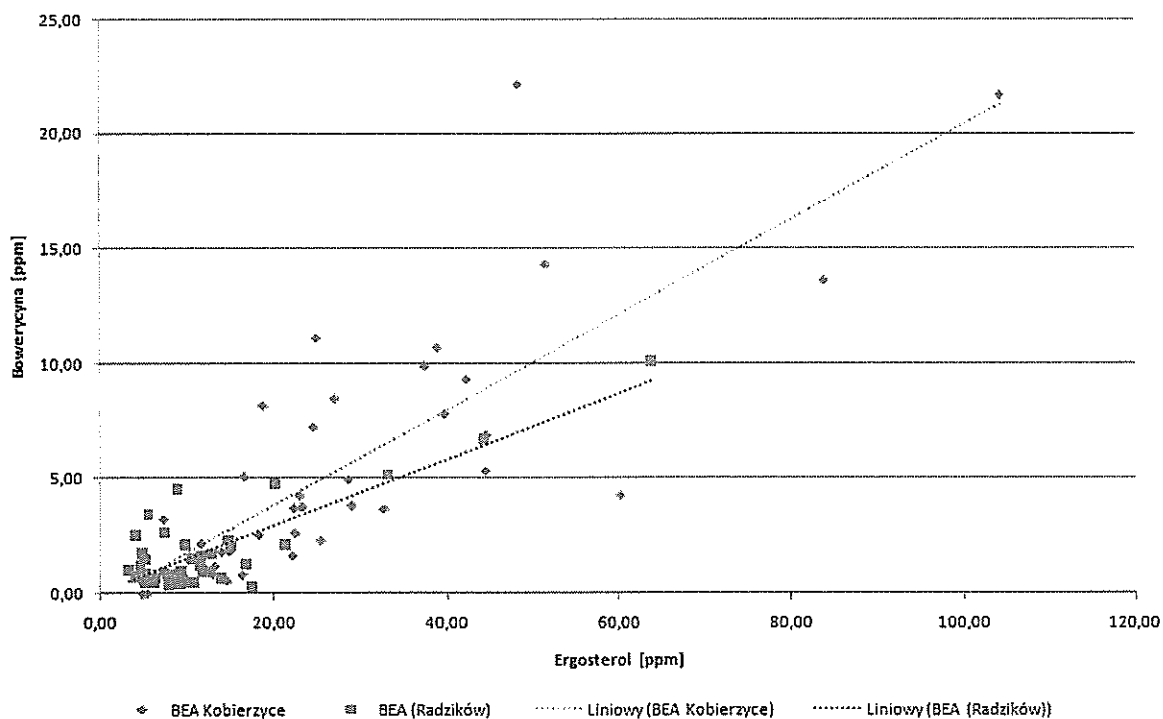
- nie stwierdzono



Rycina 2.3. Analiza regresji pomiędzy zawartością ergosterolu (ERG) a poziomem bowerycyny (BEA) w ziarniakach , materiały hodowlane Smolice, doświadczenie założone w Smolicach i w Radzikowie - 2019 rok.

$$BEA (Smolice) = 0,276 \text{ ERG} + 1,004, r^2 = 0,739$$

$$BEA (Radzików) = 0,297 \text{ ERG} - 1,574, r^2 = 0,599$$



Rycina 2.4. Analiza regresji pomiędzy zawartością ergosterolu (ERG) a poziomem bowerycyny (BEA) w ziarniakach , materiały hodowlane Kobierzyce, doświadczenie założone w Kobierzycach i w Radzikowie - 2019 rok.

$$BEA (Kobierzyce) = 0,207 \text{ ERG} - 0,365, r^2 = 0,636$$

$$BEA (Radzików) = 0,144 \text{ ERG} + 0,033, r^2 = 0,697$$

4.3. 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*

Material i metody

- pozyskanie izolatów *F.temperatum* do badań z zakresu spektrum biosyntetyzowanych metabolitów, patogeniczności i zmienności. Izolaty w liczbie 50 wyprowadzano 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 mikrokonidiów 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* (*MAT1-1* i *MAT1-2*). Ich wyznaczenie dostarczyło wiedzy na temat epidemiologii i zmienności tego grzyba.

- analiza spektrum biosyntetyzowanych metabolitów *F.temperatum* prowadzono w oparciu o ziarniaki ryżu stanowiące podłoże, na którym w warunkach *in-vitro* prowadzono hodowlę patogena. Podłoże w ilości 50 g, po doprowadzeniu do wilgotności 45% a następnie zautoklawowaniu zaszczipiano zawiesiną zarodników o mianie 10⁶. Hodowlę 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 heksadepsyptydowych 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 heksadepsyptydowych (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 opisaną 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 przeprowadzono przy 10 krotnym powtórzeniu dla każdego izolatu.

Kwaśna H., Chelkowski J., Zajkowski P. 1991. Grzyby (Mycota), Grzyby niedoskonałe (Deuteromycetes), Strzępczakowe (Hyphomycetales), Gruzelkowate (Tuberculariaceae), Sierpik (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 ziarniaków uzyskanych z kolb wykazujących objawy fuzariozy rozwijającej się w następstwie infekcji naturalnych. Ziarniaki wykładano na podłoże PDA w szalkach Petriego, a po uzyskaniu wzrostu plechy, grzybnię o cechach *Fusarium* spp. pasażowano na skosy. Wstępną identyfikację uzyskanych izolatów przeprowadzono na podłożu SNA. Z izolatów o cechach *F. temperatum* wyprowadzono 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 grzybnią 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 mikroplitek 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 Ł., Kostecki M., Chelkowski 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-401 - PFt-450

L.p.	Izolat PFt	Stężenie DNA [ng/μl]	Czystość DNA (Ratio)
1	PFt-401	48,2	1,85
2	PFt-402	52,2	1,93
3	PFt-403	50,1	1,99
4	PFt-404	82,7	2,02
5	PFt-405	25,7	1,99
6	PFt-406	24,4	1,85
7	PFt-407	68,8	1,95
8	PFt-408	117,5	1,89
9	PFt-409	59,7	1,99
10	PFt-410	53,8	2,09
11	PFt-411	36,6	1,92
12	PFt-412	40,2	2,12
13	PFt-413	91,2	1,95
14	PFt-414	54,0	2,20
15	PFt-415	53,4	2,00
16	PFt-416	31,8	1,88
17	PFt-417	267,5	1,97
18	PFt-418	54,5	1,89
19	PFt-419	36,1	2,09
20	PFt-420	15,4	1,95
21	PFt-421	13,1	2,08
22	PFt-422	65,8	1,99
23	PFt-423	76,3	2,00
24	PFt-424	44,1	2,14
25	PFt-425	80,0	1,93
26	PFt-426	74,3	2,08
27	PFt-427	29,4	2,03
28	PFt-428	22,8	2,04
29	PFt-429	78,9	1,95
30	PFt-430	90,8	1,97
31	PFt-431	144,2	1,99
32	PFt-432	136,4	2,01
33	PFt-433	92,7	1,89
34	PFt-434	26,1	1,85

Tabela 3.1. cd. Stężenie i czystość wyizolowanego DNA izolatów PFt-401 - PFt-450

L.p.	Izolat PFt	Stężenie DNA [ng/ μ l]	Czystość DNA (Ratio)
35	PFt-435	112,7	1,81
36	PFt-436	58,6	1,91
37	PFt-437	37,4	2,10
38	PFt-438	19,5	1,81
39	PFt-439	44,2	2,06
40	PFt-440	44,4	1,83
41	PFt-441	32,6	2,06
42	PFt-442	75,9	1,89
43	PFt-443	121,0	1,97
44	PFt-444	121,5	1,97
45	PFt-445	11,3	2,11
46	PFt-446	71,5	1,92
47	PFt-447	27,0	2,08
48	PFt-448	25,7	1,92
49	PFt-449	43,9	1,81
50	PFt-450	52,7	2,03

Identyfikację molekularną badanych izolatów przeprowadzono 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 *MAT1-1* i *MAT1-2*. W tym celu DNA izolatów poddawano reakcji PCR w celu zamplifikowania fragmentów idiomorf *MAT1-1* i *MAT1-2*. 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'-GGAAGTACCAGTGATCATGTT-3'		
β -tubulina	T1	5'-AACATGCGTGAGATTGTAAGT-3'	1220 pz	O'Donnell i Cigelnik, 1997
	T22	5'-TCTGGATGTTGTTGGAATCC-3'		
MAT1-1	GFmat1a	5'-GTTTCATCAAAGGGCAAGCG-3'	200 pz	Steenkamp i in., 2000
	GFmat1b	5'-TAAGCGCCTCTTAACGCCTTC-3'		
MAT1-2	GFmat2c	5'-AGCGTCATTATTCGATCAAG-3'	800 pz	
	GFmat2d	5'-CTACGTTGAGAGCTGTACAG-3'		

Tabela 3.3. Skład mieszaniny reakcyjnej PCR

Reakcje amplifikacji prowadzono w termocyklarach Applied Biosystems: 2720 Thermal Cycler (96 Well) oraz Veriti 96 Well Thermal Cycler. Na każdą próbę sporządzano 20 μ l 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 μ l
10X Taq Buffer	2,0 μ l
25 mM MgCl ₂	1,6 μ l
10mM dNTP Mix	0,2 μ l
starter forward	0,2 μ l
starter reverse	0,2 μ l
polimeraza Taq	0,2 μ l
DNA	1,6 μ l

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

Geiser D.M., Jimenz 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 Phylogenet 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

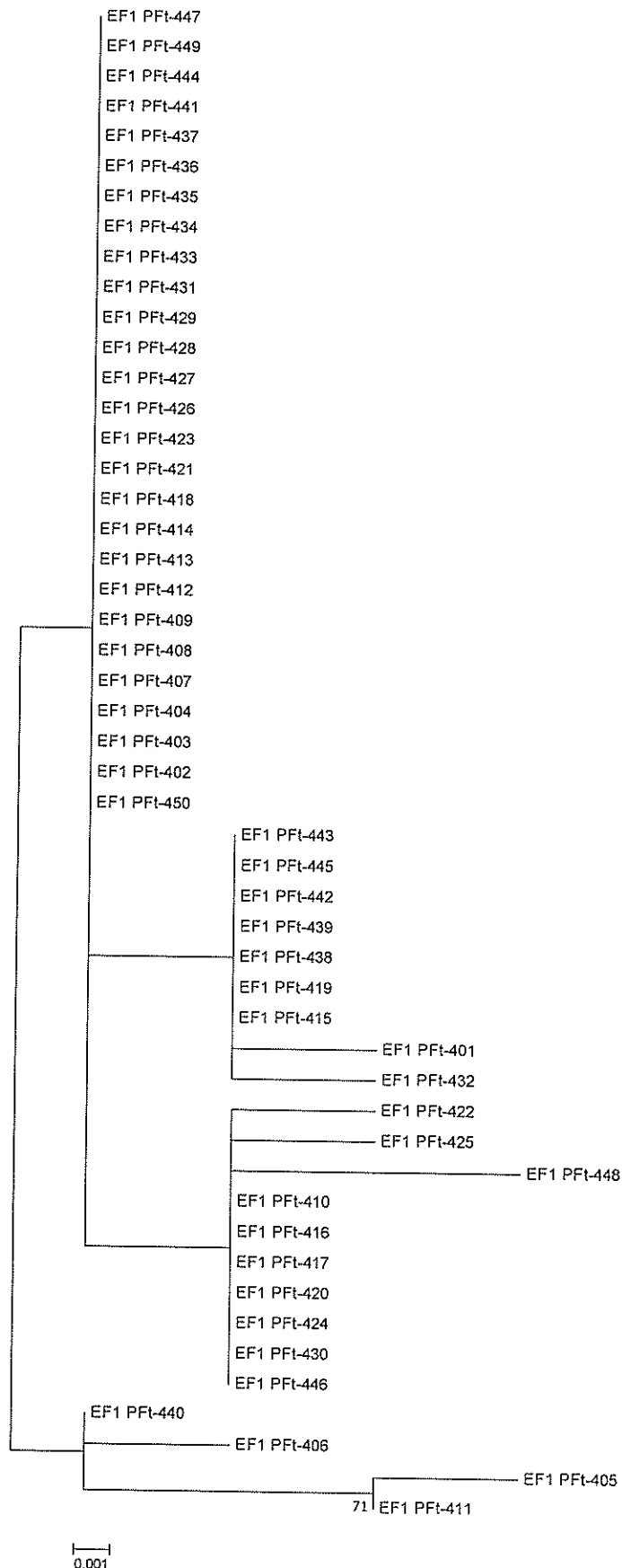
Etapy reakcji PCR:	EF-1 α	β -tubulina	MAT1-1 / MAT1-2
Wstępna denaturacja	5 minut, 94 °C	5 minut, 94 °C	1 minuta, 94 °C
Denaturacja	30 sekund 95 °C	35 sekund 94 °C	60 sekund 94 °C
Przyłączanie starterów	45 sekund 58 °C	40 cykli 55 sekund 54 °C	35 cykli 60 sekund 58 °C
Synteza nici komplementarnych	75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

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

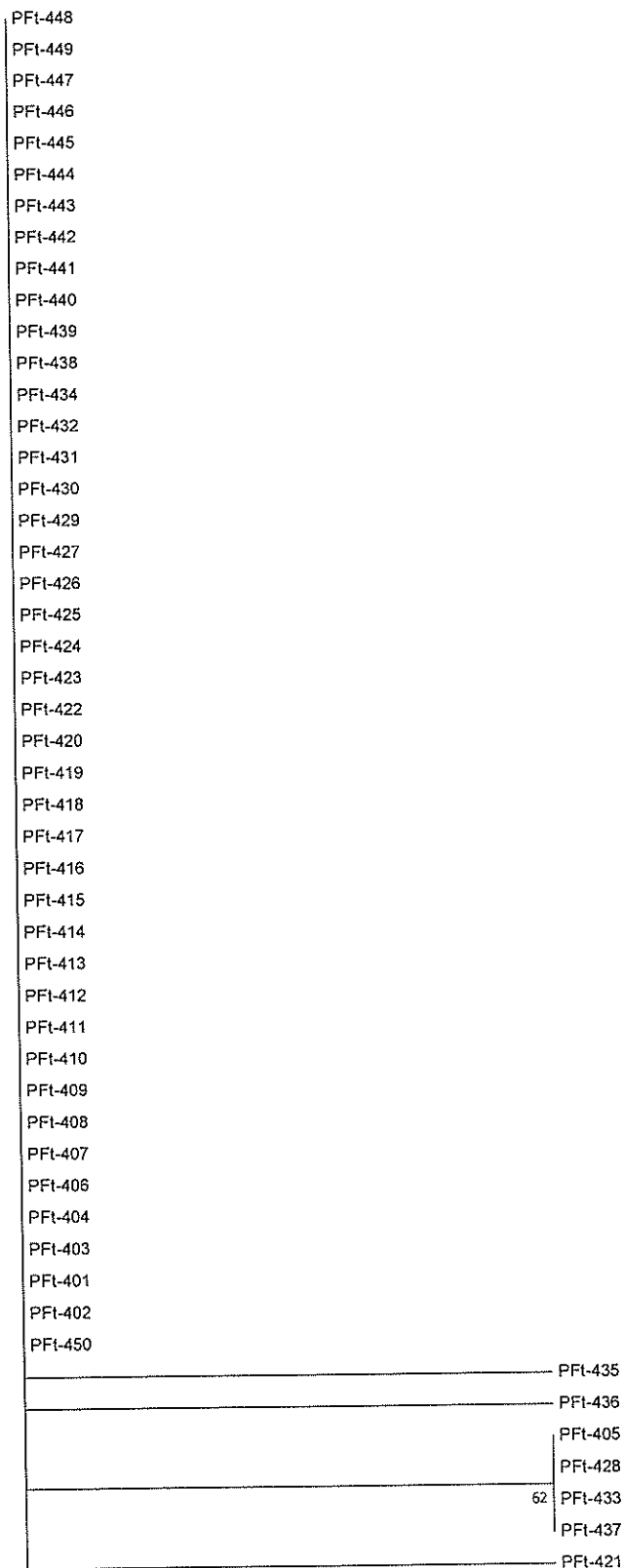
Średnia długość uzyskanych sekwencji wyniosła 727 pz (par zasad) dla *EF-1 α* i 943 pz dla *β -tubuliny*. Do dalszych analiz wybrano fragmenty sekwencji *EF-1 α* i *β -tubuliny* o wysokiej jakości odczytu, których długość wyniosła odpowiednio: 246 pz oraz 415 pz.

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% homologie uzyskanych sekwencji względem aktualnie dostępnych w GenBank sekwencji izolatów gatunków *Fusarium* sp. (tabela 3.5).

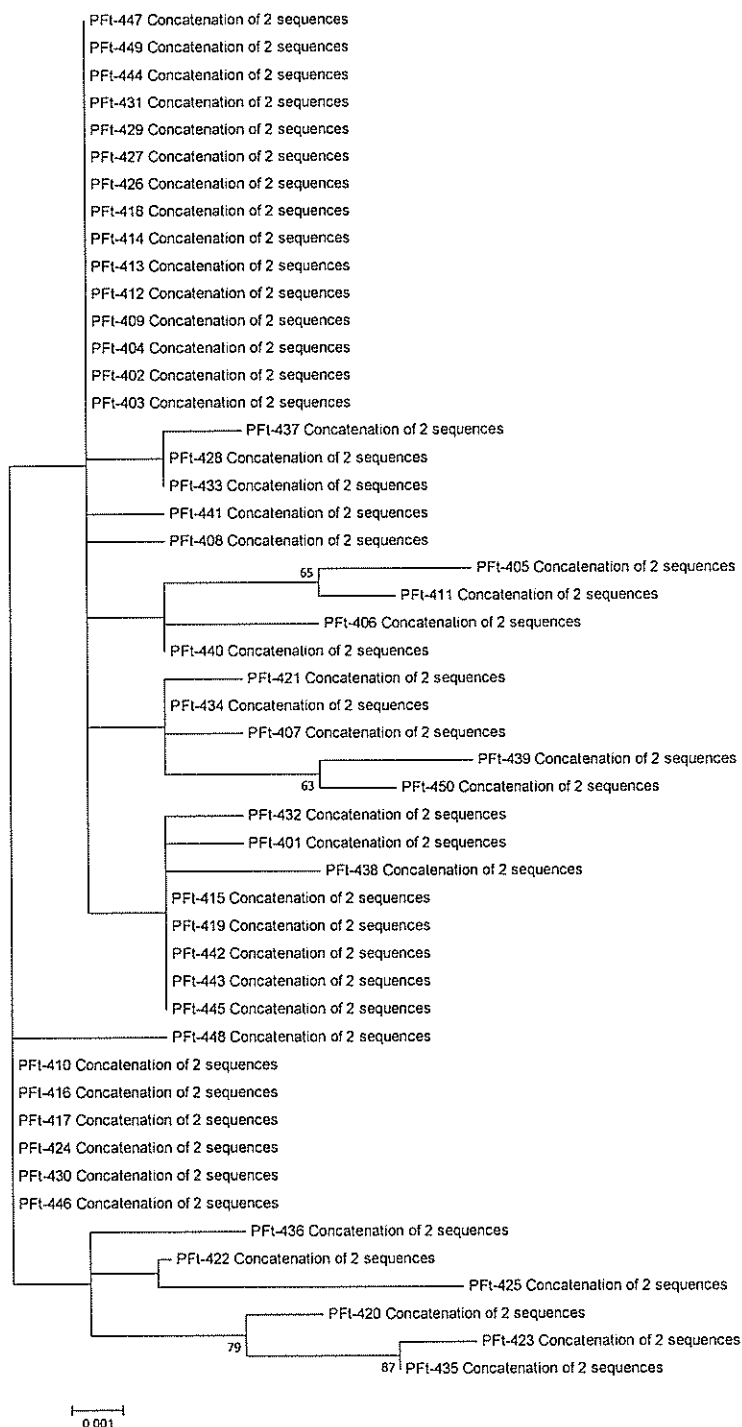
Na podstawie opracowanych dopasowań sekwencji *EF-1 α* i *β -tubuliny* przeprowadzono analizę pokrewieństwa filogenetycznego badanych izolatów z zastosowaniem metody największej wiarygodności (Maximum Likelihood, ML), której wyniki przedstawiono na rycinach: rycina 3.1 (*EF-1 α*), rycina 3.2 (*β -tubulina*) i rycina 3.3 (połączone sekwencje obu analizowanych regionów – *EF-1 α + β -tubulina*; ang. *concatenated sequences*).



Rycina 3.1. Drzewo pokrewieństwa filogenetycznego sekwencji nukleotydowych *EF-1a* badanych izolatów *Fusarium temperatum*. Drzewo obliczone za pomocą metody największej wiarygodności (Maximum Likelihood, ML) w oparciu o model Tamury i Nei z testem samopróbkowania na poziomie 1000 powtórzeń. Średnia odległość między dwiema sekwencjami, liczona wg wzoru Jukesa-Cantora (JC) = 0,001.



Rycina 3.2. 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 samopróbkowania na poziomie 1000 powtórzeń. Średnia odległość między dwiema sekwencjami, liczona wg wzoru Jukesa-Cantora (JC) = 0,0002.



Rycina 3.3. Drzewo pokrewieństwa filogenetycznego złączonych sekwencji nukleotydowych *EF-1α+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 samopróbkowania na poziomie 1000 powtórzeń. Średnia odległość między dwiema sekwencjami, liczona wg wzoru Jukesa-Cantora (JC) = 0,001.

W celu określenia przynależności izolatów do typu kojarzeniowego uzyskane produkty reakcji PCR z zastosowaniem starterów GFmat1 i GFmat2 poddawano rozdzielni 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 26 do 24 (wynik testu χ^2 z poprawką Yatesa: $\chi^2 = 0,02$; $p = 0,88753708$).

Tabela 3.5. Homologia uzyskanych sekwencji izolatów PFT-401 – PFT-450 względem dostępnych 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-401	99,6%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	100,0%	HM067692	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
2	PFT-402	100,0%	AF160301	<i>F. temperatum</i>	100,0%	HM067692	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
3	PFT-403	100,0%	MH684485	<i>F. temperatum</i>	100,0%	HM067692	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
4	PFT-404	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	100,0%	HM067692	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
5	PFT-405	98,8%	KP270936	<i>F. temperatum</i>	99,8%	HM067692	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
6	PFT-406	99,6%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	99,8%	HM067692	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
7	PFT-407	100,0%	MH684485	<i>F. temperatum</i>	99,8%	HM067692	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
8	PFT-408	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	99,5%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
9	PFT-409	100,0%	KF422728	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
10	PFT-410	100,0%	KP270948	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
11	PFT-411	98,8%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	99,8%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
12	PFT-412	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
13	PFT-413	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
14	PFT-414	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
15	PFT-415	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
16	PFT-416	100,0%	KP270948	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
17	PFT-417	100,0%	KP270948	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
18	PFT-418	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
19	PFT-419	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
20	PFT-420	100,0%	KP270948	<i>F. temperatum</i>	99,1%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
21	PFT-421	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	99,5%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
22	PFT-422	99,6%	KP270948	<i>F. temperatum</i>	99,8%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
23	PFT-423	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	98,6%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2

Tabela. 3.5 cd. Homologia uzyskanych sekwencji izolatów PFt-401 - PFt-450 względem dostępnych 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-424	100,0%	KP270948	<i>F. temperatum</i>	100,0%	HM067692	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
25	PFt-425	99,6%	HM067686	<i>F. temperatum</i>	99,1%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
26	PFt-426	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
27	PFt-427	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270966	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
28	PFt-428	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
29	PFt-429	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
30	PFt-430	100,0%	KP270948	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
31	PFt-431	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
32	PFt-432	99,6%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270966	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
33	PFt-433	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
34	PFt-434	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	99,8%	HM067692	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
35	PFt-435	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	99,1%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
36	PFt-436	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	99,8%	KP270966	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
37	PFt-437	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	99,5%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
38	PFt-438	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	99,1%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
39	PFt-439	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
40	PFt-440	99,6%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	99,8%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
41	PFt-441	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
42	PFt-442	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
43	PFt-443	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
44	PFt-444	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
45	PFt-445	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	99,8%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
46	PFt-446	100,0%	KP270948	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2

Tabela. 3.5 cd. Homologia uzyskanych sekwencji izolatów PFt-401 - PFt-450 względem dostępnych 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	
47	PFt-447	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	100,0%	HM067692	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2
48	PFt-448	99,2%	KP270948	<i>F. temperatum</i>	100,0%	HM067692	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
49	PFt-449	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	100,0%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-1
50	PFt-450	100,0%	MG588054	<i>F. temperatum</i>	99,1%	KP270972	<i>F. temperatum</i>	MAT1-2

B/ Profil metabolitów wtórnych biosyntetyzowanych przez *Fusarium temperatum*

Profil metabolitów wtórnych biosyntetyzowanych przez izolaty *F.temperatum* przedstawia **tabela 3.6**. W badaniach uwzględniono 50. izolatów wspomnianego gatunku, dla których biosyntezę metabolitów prowadzono na ziarniakach ryżu. Analizę przeprowadzono w kierunku występowania fumonizyn (FB1 i FB2), pochodnych heksadepsyptydowych (BEA i ENN) oraz ergosterolu.

Na ziarniakach ryżu, spośród 50. przebadanych izolatów *F.temperatum*, wszystkie produkowały bowerycynę (BEA). Średni poziom tego metabolitu wynosił 1056,1 ppm. Ilościowo najwięcej BEA biosyntetyzował izolat PFt-403 (2131,4 ppm), najmniej zaś izolat PFt-415 (19,9 ppm). W obrębie analizowanej populacji grzyba 49. izolatów biosyntetyzowało eniatynę A1. Średni poziom tego metabolitu wynosił 33,5 ppm i oscylował w przedziale 8,3 – 140,3 ppm.

Na ryżu eniatyny B i B1 produkowało odpowiednio 19. i 23. izolaty *F.temperatum*. Średni poziom ENN B wynosił 12,7 ppm. Ilościowo najwięcej ENN B biosyntetyzował izolat PFt-437 (41,5 ppm), najmniej zaś izolat PFt -417 (1,3 ppm). Średni poziom ENN B1 dla populacji przebadanych izolatów wynosił 21,6 ppm. Ilościowo najwięcej ENN B1 biosyntetyzował izolat PFt-407 (81,4 ppm), najmniej zaś izolat PFt-432 (2,3 ppm). Żaden z przebadanych 50. izolatów patogena nie wytwarzał eniatyny A oraz fumonizyn. Średni poziom ergosterolu dla populacji przebadanych izolatów wynosił 580,2 ppm. Najwyższy poziom 1360,4 ppm ergosterolu zanotowano w przypadku izolatu PFt -422, zaś najniższy poziom tego metabolitu 102,5 ppm wykazał izolat o numerze PFt -442.

Przeprowadzona analiza regresji opisująca relację pomiędzy zawartością ergosterolu oraz zawartością bowerycyny w ziarniakach ryżu wskazuje na występowanie istotnej funkcyjnej, wprostproporcjonalnej zależności wiążącej wymienione parametry (**Ryc. 3.4**).

Tab. 3.6. Profil metabolitów wtórnych *F.temperatum* biosyntetyzowanych na ryżu.

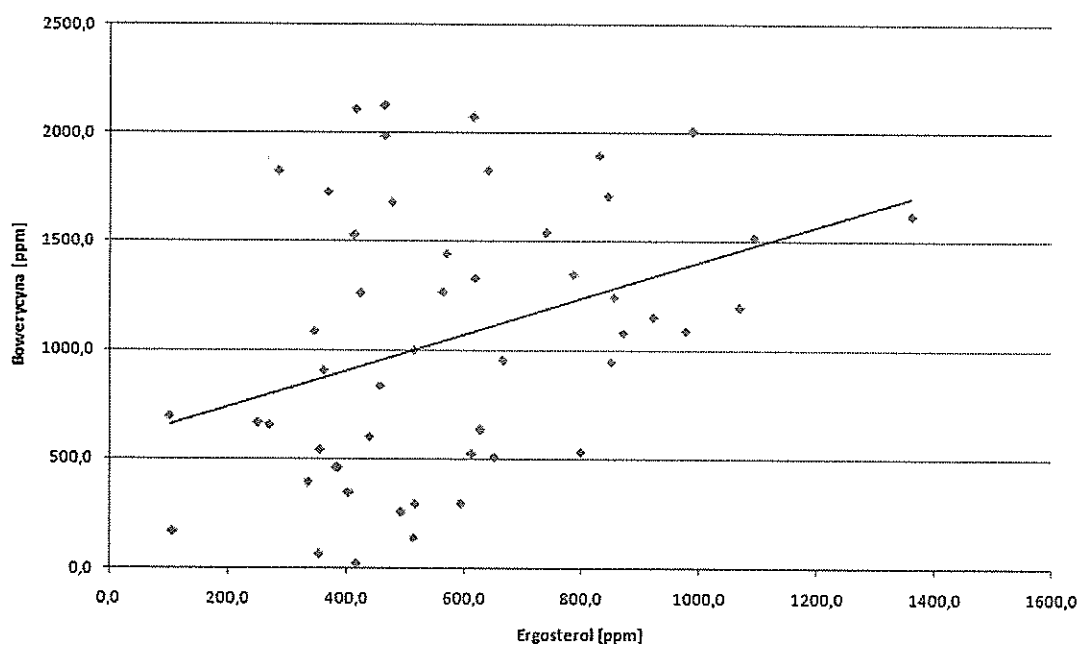
Lp	Izolat	FB1	FB2	BEA	ENN B	ENN B1	ENN A1	ENN A	ERG
		[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]
1	PfT-401	--	--	1732,3	--	--	12,0	--	368,6
2	PfT-402	--	--	1830,4	--	38,4	39,3	--	640,6
3	PfT-403	--	--	2131,4	--	23,7	26,2	--	463,4
4	PfT-404	--	--	1542,7	2,9	9,7	43,1	--	740,1
5	PfT-405	--	--	2114,3	--	--	85,1	--	415,8
6	PfT-406	--	--	666,9	2,7	--	140,3	--	251,1
7	PfT-407	--	--	457,3	--	81,4	23,0	--	385,8
8	PfT-408	--	--	1150,7	--	8,3	24,7	--	923,6
9	PfT-409	--	--	530,5	5,7	--	20,1	--	798,9
10	PfT-410	--	--	1683,3	--	60,9	69,7	--	476,5
11	PfT-411	--	--	1244,1	--	--	56,4	--	857,1
12	PfT-412	--	--	946,1	--	--	36,1	--	851,8
13	PfT-413	--	--	1331,5	--	3,1	28,8	--	617,9
14	PfT-414	--	--	542,1	--	9,5	9,9	--	354,8
15	PfT-415	--	--	19,9	3,5	--	--	--	415,5
16	PfT-416	--	--	1089,3	--	--	53,3	--	977,8
17	PfT-417	--	--	1829,7	1,3	--	102,5	--	285,9
18	PfT-418	--	--	1900,0	--	17,5	61,1	--	831,3
19	PfT-419	--	--	1349,4	--	18,4	42,1	--	786,4
20	PfT-420	--	--	1532,0	--	--	46,3	--	412,5
21	PfT-421	--	--	602,2	4,1	--	19,0	--	439,1
22	PfT-422	--	--	1622,5	--	--	45,9	--	1360,4
23	PfT-423	--	--	1199,1	17,5	30,1	21,7	--	1068,7
24	PfT-424	--	--	462,1	36,9	--	13,4	--	382,7
25	PfT-425	--	--	999,7	22,5	2,7	29,1	--	514,2
26	PfT-426	--	--	167,2	16,1	--	22,7	--	107,1
27	PfT-427	--	--	507,5	24,9	43,9	30,8	--	650,4
28	PfT-428	--	--	953,6	--	12,8	23,9	--	666,1
29	PfT-429	--	--	656,0	15,5	4,4	17,6	--	269,8
30	PfT-430	--	--	1087,3	--	2,7	15,3	--	345,9
31	PfT-431	--	--	344,4	--	--	15,3	--	403,0
32	PfT-432	--	--	296,1	--	2,3	11,3	--	593,7
33	PfT-433	--	--	255,7	--	--	25,0	--	491,4
34	PfT-434	--	--	908,8	--	--	20,3	--	362,0
35	PfT-435	--	--	523,9	--	--	33,4	--	612,4
36	PfT-436	--	--	2013,3	--	12,5	20,2	--	989,3
37	PfT-437	--	--	2078,9	41,5	--	30,3	--	615,0
38	PfT-438	--	--	1269,1	27,5	--	21,1	--	562,9
39	PfT-439	--	--	1712,1	--	--	47,0	--	846,0
40	PfT-440	--	--	1445,7	10,5	13,5	15,6	--	570,1

- nie stwierdzono

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

Lp	Izolat	FB1	FB2	BEA	ENN B	ENN B1	ENN A1	ENN A	ERG
		[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]
41	PFt-441	--	--	1521,6	--	--	23,5	--	1093,6
42	PFt-442	--	--	695,5	2,2	--	26,1	--	102,5
43	PFt-443	--	--	393,3	--	5,0	14,6	--	335,2
44	PFt-444	--	--	293,9	--	11,3	33,7	--	515,7
45	PFt-445	--	--	636,5	3,1	--	13,3	--	627,2
46	PFt-446	--	--	1989,8	--	73,5	35,9	--	464,4
47	PFt-447	--	--	136,2	3,7	--	15,4	--	513,4
48	PFt-448	--	--	1264,5	--	10,7	39,1	--	423,7
49	PFt-449	--	--	64,9	--	--	8,3	--	353,7
50	PFt-450	--	--	1078,5	10,8	--	33,3	--	872,2

- nie stwierdzono



Rycina 3.4. Analiza regresji pomiędzy zawartością ergosterolu (ERG) a poziomem bowerycyny (BEA), produkowanych na ryżu przez izolaty *Fusarium temperatum*

$$BEA = 0,829 \text{ ERG} + 572,3, r^2 = 0,124$$

C/ Ocena patogeniczności izolatów

Ocenę patogeniczności przeprowadzono dla 70 izolatów *F.temperatum* (tabela. 3.7). Stwierdzono istotne zróżnicowanie tej cechy w obrębie badanej populacji patogenów. Izolatami dającymi najbardziej rozległe zmiany na pędach inokulowanych roślin były izolaty Pft-450, Pft-449, Pft-437, Pft-416 oraz Pft-444. Stanowiły one podstawę do badań podatności genotypów kukurydzy przez *F.temperatum*.

Tabela 3.7. Ocena patogeniczności izolatów *F. temperatum*

IZOLAT	DŁUGOŚĆ ¹				SZEROKOŚĆ ²				INDEKS PORAZENIA ³			
		±				±				±		
Pft-401	2,19	±	1,48	k-m	0,40	±	0,12	a-g	0,82	±	0,40	b-h
Pft-402	1,18	±	0,37	a-d	0,59	±	0,23	i	0,72	±	0,39	a-g
Pft-403	1,61	±	0,79	a-l	0,52	±	0,21	g-i	0,83	±	0,53	b-h
Pft-404	1,54	±	0,46	a-k	0,48	±	0,20	c-i	0,77	±	0,39	b-g
Pft-405	1,77	±	1,18	c-m	0,34	±	0,14	a-c	0,62	±	0,54	a-e
Pft-406	1,42	±	0,83	a-i	0,41	±	0,17	a-h	0,65	±	0,50	a-e
Pft-407	1,26	±	0,45	a-e	0,43	±	0,26	a-h	0,49	±	0,30	a-c
Pft-408	1,65	±	0,92	a-m	0,36	±	0,12	a-e	0,57	±	0,29	a-c
Pft-409	1,99	±	0,57	f-m	0,50	±	0,17	e-i	1,01	±	0,50	d-h
Pft-410	1,29	±	0,84	a-e	0,35	±	0,13	a-d	0,50	±	0,37	a-c
Pft-411	1,01	±	0,54	a-b	0,31	±	0,15	a	0,30	±	0,18	a
Pft-412	1,25	±	0,40	a-e	0,49	±	0,19	d-i	0,67	±	0,44	a-f
Pft-413	2,15	±	1,30	j-m	0,33	±	0,14	a-b	0,70	±	0,49	a-g
Pft-414	2,05	±	1,26	h-m	0,31	±	0,11	a	0,59	±	0,22	a-d
Pft-415	1,31	±	0,55	a-f	0,42	±	0,21	a-h	0,56	±	0,43	a-c
Pft-416	2,21	±	1,10	k-m	0,46	±	0,22	b-i	1,09	±	0,95	f-h
Pft-417	1,41	±	0,66	a-i	0,44	±	0,16	a-h	0,60	±	0,25	a-d
Pft-418	1,58	±	0,44	a-l	0,42	±	0,16	a-h	0,70	±	0,43	a-g
Pft-419	1,88	±	0,53	e-m	0,34	±	0,10	a-c	0,66	±	0,27	a-e
Pft-420	1,41	±	0,25	a-i	0,34	±	0,12	a-c	0,49	±	0,21	a-c
Pft-421	1,70	±	0,75	b-m	0,45	±	0,14	a-i	0,74	±	0,34	b-g
Pft-422	1,16	±	0,56	a-d	0,44	±	0,27	a-h	0,54	±	0,42	a-c
Pft-423	1,12	±	0,38	a-c	0,51	±	0,15	f-i	0,60	±	0,25	a-d
Pft-424	1,16	±	0,42	a-d	0,45	±	0,22	a-i	0,57	±	0,47	a-c
Pft-425	1,67	±	0,48	a-m	0,38	±	0,11	a-g	0,66	±	0,33	a-e
Pft-426	1,40	±	0,40	a-i	0,51	±	0,20	f-i	0,67	±	0,21	a-f
Pft-427	1,36	±	0,67	a-h	0,39	±	0,23	a-g	0,61	±	0,63	a-e
Pft-428	1,40	±	0,42	a-i	0,55	±	0,19	h-i	0,80	±	0,39	b-h
Pft-429	1,46	±	0,55	a-j	0,39	±	0,11	a-g	0,57	±	0,25	a-c
Pft-430	2,34	±	1,47	m-n	0,36	±	0,13	a-e	0,83	±	0,53	b-h
Pft-431	0,98	±	0,34	a	0,46	±	0,16	b-i	0,45	±	0,20	a-c
Pft-432	1,82	±	0,86	d-m	0,41	±	0,14	a-h	0,75	±	0,52	b-g
Pft-433	1,05	±	0,40	a-b	0,41	±	0,12	a-h	0,45	±	0,25	a-c
Pft-434	1,24	±	0,37	a-e	0,33	±	0,12	a-b	0,44	±	0,26	a-b
Pft-435	1,36	±	0,34	a-h	0,50	±	0,19	e-i	0,71	±	0,42	a-g

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

IZOLAT	DŁUGOŚĆ ¹				SZEROKOŚĆ ²				INDEKS PORAŻENIA ³			
		±				±				±		
PfT-436	1,66	±	0,75	a-m	0,35	±	0,17	a-d	0,67	±	0,61	a-f
PfT-437	3,00	±	1,24	n	0,35	±	0,15	a-d	1,10	±	0,82	g-h
PfT-438	1,39	±	0,55	a-i	0,49	±	0,17	d-i	0,71	±	0,41	a-g
PfT-439	1,43	±	0,36	a-i	0,46	±	0,12	b-i	0,64	±	0,22	a-e
PfT-440	1,63	±	0,95	a-l	0,33	±	0,18	a-b	0,54	±	0,35	a-c
PfT-441	1,57	±	0,97	a-l	0,42	±	0,13	a-h	0,69	±	0,53	a-g
PfT-442	1,54	±	0,59	a-k	0,50	±	0,20	e-i	0,82	±	0,42	b-h
PfT-443	1,76	±	0,92	c-m	0,49	±	0,23	d-i	0,80	±	0,46	b-h
PfT-444	2,02	±	1,25	g-m	0,46	±	0,13	b-i	1,03	±	0,98	e-h
PfT-445	1,90	±	0,88	e-m	0,44	±	0,16	a-h	0,87	±	0,63	c-h
PfT-446	1,33	±	0,49	a-g	0,51	±	0,11	f-i	0,69	±	0,36	a-g
PfT-447	1,45	±	0,72	a-i	0,43	±	0,16	a-h	0,59	±	0,34	a-d
PfT-448	1,29	±	0,44	a-e	0,37	±	0,17	a-f	0,45	±	0,24	a-c
PfT-449	2,26	±	1,52	l-m	0,41	±	0,14	a-h	1,11	±	1,16	g-h
PfT-450	2,07	±	0,70	i-m	0,55	±	0,21	h-i	1,22	±	0,78	h

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