SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE

z realizacji zadania na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w 2017 roku

Tytuł zadania: **Badania zdrowotności owsa (*Avena sativa* L.) z uwzględnieniem biologii i szkodliwości wybranych patogenów dla tego zboża.**

Numer zadania **28** *(w załączniku nr 8 do rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 29 lipca 2015 r. w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa (Dz. U., poz. 1170)*

1. Zespół badawczy:

kierownik zadania		
imię i nazwisko	stopień i tytuł naukowy	miejsce zatrudnienia
Elżbieta Mielniczuk	Dr inż.	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
wykonawcy zadania		
imię i nazwisko	stopień i tytuł naukowy	miejsce zatrudnienia
Irena Kiecana	Prof. dr hab.	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Małgorzata Cegiełko	Dr inż.	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Alina Pastucha	Dr inż.	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Juliusz Perkowski	Prof. dr hab.	Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Piotr Kachlicki	Prof. dr hab.	IGR PAN Poznań

OPIS ZADANIA

1. Cele zadania

Lp.	Cel (zgodnie ze szczegółowym opisem na dany rok)	Czy cel został zrealizowany (tak/nie[1]/częściowo[1])
1.	określenie szkodliwości szczepów *Drechslera avenae*, dla liści wybranych 15 genotypów owsa w warunkach kontrolowanej temperatury i wilgotności	tak
2.	określenie zdrowotności nowych genotypów owsa w różnych fazach wzrostu i rozwoju z uwzględnieniem składu gatunkowego grzybów zagrażających uprawie tego zboża (patogenów korzeni i źdźbeł oraz wiech)	tak
3.	określenie podatności wybranych genotypów owsa na porażenie wiech przez *Fusarium* spp.	tak

[1] Jeśli dotyczy – proszę opisać pod tabelą, w jakim stopniu cel został osiągnięty i podać przyczyny

4.	zbadanie profilu metabolitów wtórnych wytwarzanych przez wybrane gatunki z rodzaju *Fusarium* i określenie poziomu zanieczyszczenia mykotoksynami ziarna owsa	tak
5.	określenie jakościowe metabolitów wytwarzanych przez wybrane szczepy *Bipolaris sorokiniana* i *Drechslera* spp.	tak

2. Opis tematów badawczych

2. 1. Temat badawczy 1: Badania szkodliwości szczepów *Drechslera avenae*, dla liści wybranych 15 genotypów owsa w warunkach kontrolowanej temperatury i wilgotności

Cel tematu badawczego 1: Celem tematu jest określenie szkodliwości *D. avenae* dla liści wybranych genotypów owsa i wytypowanie genotypów najmniej podatnych na porażenie przez tego patogena – **cel osiągnieto w całości**

Materiały i metody: Ziarniaki 15 genotypów owsa (DC 06011-8, DC 14-8, DC 16-4, DC 16-5, Romulus, POB 6879/13, POB 6951/13, POB 7053/13, POB 7372/13, POB 7538/13, STH 2. 102, STH 4.376, STH 4.380, STH 7.12, STH 7.18), po ich uprzednim odkażeniu powierzchniowym i podkiełkowaniu w komorach wilgotnościowych przez 4-5 dni, wykładano do doniczek napełnionych mieszaniną sterylnej ziemi z dodatkiem piasku. Dla każdego genotypu wykładano po 40 podkiełkowanych ziarniaków (4 x 10) przeznaczonych do I sposobu inokulacji i po 40 ziarniaków przeznaczonych do II sposobu inokulacji.

Doniczki z wyłożonymi podkiełkowanymi ziarniakami przetrzymywano w fitotronie do osiągnięcia przez rośliny 5 liści i zakażano. Do sporządzenia materiału infekcyjnego wykorzystano dwa szczepy *Drechslera avenae* nr 6 i *D. avenae* nr 16. Zastosowano dwa sposoby inokulacji liści: w pierwszej kombinacji - I - inokulum przygotowano z jednozarodnikowych kultur *D. avenae*, wyrosłych na pożywce dekstrozowo-ziemniaczanej, w termostacie, w temperaturze 24ºC przez okres 10 dni. Po tym czasie kultury spłukiwano 10 ml sterylnej wody destylowanej oraz zeskrobywano grzybnię wraz z konidiami z powierzchni kolonii szpatułką. Powstałą zawiesinę wymieszano, przefiltrowano przez gęste płótno do kolb szklanych zawierających 0,1% wodny agar, do którego przy użyciu pipety automatycznej dodano $0{,}05 ml \cdot l^{-1}$ płynu zmiękczającego w celu zmniejszenia napięcia powierzchniowego liści. Gęstość zawiesiny zarodników doprowadzano do 25×10^4 zarodników$\cdot ml^{-1}$. Liście każdej rośliny spryskiwano 1 ml zawiesiny zawierającej zarodniki badanych szczepów *D. avenae* na 1 liść, przy użyciu ręcznego opryskiwacza ogrodniczego.

W drugiej kombinacji zakażania liści - II, materiał infekcyjny stanowiły ok. 3 mm zarodnikujące fragmenty grzybni 2 szczepów *D. avenae* nr 6 i *D. avenae* nr 16 wraz z agarem (z kolonii przygotowanych jak w I kombinacji), które naklejano na wszystkich liściach siewek w każdej z doniczek.

Doniczki z zakażonymi liśćmi przetrzymywano w foliowych komorach wilgotnościowych przez 48 godzin, a następnie w pomieszczeniu, gdzie powietrze nawilżano przy użyciu nawilżacza.

Objawy chorobowe oceniano po siedmiu dniach inkubacji, na podstawie występowania nekrotycznych plam na liściach. Liście oceniano pojedynczo przy użyciu dziewięciostopniowej skali graficznej (Łacicowa i in. 1991). Po określeniu stopnia porażenia liści z każdej rośliny, określono ich liczbę w danym stopniu dla każdego z czterech powtórzeń i obliczono indeks porażenia liści wg wzoru McKinneya, uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej. W drugiej kombinacji zakażania liści przez szczepy *D. avenae* nr 6 i *D. avenae* nr 12, mierzono długość wszystkich plam, powstałych na powierzchni blaszek liściowych

badanych genotypów owsa, a następnie określano średnią ich długość u poszczególnych genotypów w przypadku obydwu szczepów *D. avenae*.

Wyniki: Zarówno w kombinacji doświadczenia z *D. avenae* nr 6, jak i *D. avenae* nr 16 obserwowano rośliny z objawami plamistości na powierzchni blaszek liściowych. W przypadku pierwszego wariantu doświadczenia, gdzie liście siewek badanych genotypów owsa opryskiwano zawiesiną zarodników obydwu analizowanych szczepów *D. avenae*, były to najczęściej drobne, nekrotyczne plamy, z żółtopomarańczowym halo, niekiedy zlewające się ze sobą.

Analiza statystyczna uzyskanych wyników wykazała, że wartości wskaźników chorobowych obliczone dla liści poszczególnych genotypów owsa różniły się istotnie. Zarówno w przypadku roślin badanych genotypów owsa, których liście sztucznie zakażano zawiesiną zarodników *D. avenae* nr 6, jak i *D. avenae* nr 16, najmniejszą wartość indeksu porażenia stwierdzono w przypadku rodu hodowlanego POB 6951/13, odpowiednio 1,88 i 2,81. W kombinacji doświadczenia z opryskiwaniem liści genotypów owsa zawiesiną zarodników szczepu *D. avenae* nr 6 najwięcej zmian chorobowych na liściach obserwowano u rodu hodowlanego DC 06011-8, dla którego wartość indeksu porażenia wynosiła 28,44, natomiast w przypadku szczepu *D. avenae* nr 16 najbardziej wrażliwy okazał się ród hodowlany DC 16-5, u którego wartość indeksu porażenia wynosiła 32,8.

W kombinacji doświadczenia z *D. avenae* Nr 6 udział liści owsa z objawami plamistości u badanych genotypów wynosił od 12,5% do 82,5%, średnio 45,83%, zaś w kombinacji doświadczenia z *D. avenae* Nr 16 od 20% do 87,5%, średnio 53,33%.

W przypadku kombinacji doświadczenia z naklejaniem fragmentów grzybni dwóch analizowanych szczepów *D. avenae*, plamy na liściach badanych genotypów owsa były większe, niż w przypadku pierwszego sposobu inokulacji, niekiedy w postaci wydłużonych, kilku centymetrowych nekroz, zwykle z żółtopomarańczowym halo. W kombinacji doświadczenia z *D. avenae* nr 6 średnia wielkość plam na liściach badanych genotypów owsa wynosiła 11,63 mm i wahała się od 5,5 mm 21,5 mm. W kombinacji doświadczenia z *D. avenae* nr 16 wielkość plam na powierzchni blaszek liściowych badanych genotypów owsa była podobna, wynosiła średnio 10,41 mm i u badanych genotypów owsa wahała się od 5 mm do 21,5 mm.

Wnioski:

1. Wykorzystane metody inokulacji okazały się przydatne do określenia podatności genotypów owsa na porażenie liści przez *D. avenae*
2. Badane szczepy *D. avenae* okazały się patogeniczne dla liści wszystkich analizowanych genotypów owsa, przy czym większą wirulencją charakteryzował się szczep *D. avenae* nr 16
3. Najmniej podatnym na porażenie liści przez badane szczepy *D. avenae* okazał się ród hodowlany **POB 6951/13**

2.2 Temat badawczy 2: Badanie zdrowotności 15 genotypów owsa w fazie dojrzałości wczesno-woskowej ziarna.

Cel tematu badawczego 2: Celem tematu było określenie stopnia porażenia źdźbeł wybranych genotypów owsa oraz ustalenie przyczyny tego schorzenia i wskazanie genotypów najmniej podatnych na porażenie przez grzyby powodujące choroby podsuszkowe – **cel osiągnięto w całości**

Materiały i metody: Badania przeprowadzono na polach Hodowli Roślin Strzelce, Gr IHAR, objęto nimi 15 genotypów owsa: DC 06011-8, DC 07116-11/2 (Romulus), DC 14-8, DC 16-4, DC 16-5, STH 2.102, STH 4.376, STH 4.380, STH 7.12, STH 7.18, POB 6879/13, POB 6951/13, POB 7053/13, POB 7372/13, POB 7538/13. Każdy z analizowanych genotypów został wysiany na poletkach doświadczalnych, o powierzchni 10 m^2. Lustracja została przeprowadzona w fazie dojrzałości wczesno-woskowej ziarna (83 w skali Zadoksa), podczas której pobrano do badań laboratoryjnych po 200 losowo wybranych źdźbeł wraz z korzeniami (50 źdźbeł z różnych miejsc poletka x 4 powtórzenia) każdego z 15 genotypów owsa. W laboratorium dla każdego genotypu określono procent źdźbeł z objawami nekrozy na korzeniach i na dolnych międzywęźlach, następnie oceniono stopień porażenia źdźbeł wg 6 - stopniowej skali (0 – brak objawów chorobowych, 5- ponad 75% podstawy źdźbła objętej nekrozą, wg Eng-Chong Pua, po czym obliczono wskaźniki chorobowe z wykorzystaniem wzoru Mc Kinney'a (wg Kiecana i in. 2003). Ponadto przeprowadzono analizę statystyczną uzyskanych wyników.

Porażone źdźbła oraz korzenie, pobrane do badań w fazie dojrzałości wczesno-woskowej ziarna poddano analizie mykologicznej, która została przeprowadzona metodą szalkową według ogólnie przyjętych w fitopatologii zasad. W tym celu po 100 fragmentów z porażonych korzeni i po 100 ze źdźbeł wyłożono do szalek Petriego wypełnionych podłożem hodowlanym. Oznaczanie wyrosłych kolonii grzybów do gatunku przeprowadzono na pożywkach standardowych wg zaleceń odpowiednich kluczy i monografii.

Wyniki: Udział źdźbeł z objawami nekrotycznych smug na dolnych międzywęźlach oraz nekrozy korzeni wynosił od 25,75% w przypadku rodu hodowlanego POB 7053/13 do 84% w przypadku odmiany Romulus. Średni odsetek źdźbeł wykazujących objawy porażenia wynosił 49,42 %.

Analiza statystyczna wykazała, że wartości wskaźników chorobowych obliczone dla porażonych źdźbeł poszczególnych genotypów różniły się istotnie. Najmniejszy indeks porazenia zanotowano u rodu hodowlanego POB 7053/13 – 13,7, największy zaś w przypadku odmiany Romulus – 41,1.

Analiza mykologiczna korzeni i dolnych międzywęźli źdźbeł dostarczyła 2336 izolatów grzybów, w tym 1118 z korzeni i 1218 z dolnych międzywęźli. W najwiekszej liczbie wyizolowano grzyby z rodzaju *Fusarium* i stanowiły one 67,7% wszystkich uzyskanych kolonii grzybów, przy czym izolaty *F. culmorum* stanowiły 42,3 % ogółu wyosobnień z korzeni i podstawy źdźbła. Pozostałe gatunki z rodzaju *Fusarium* były reprezentowane przez: *F. avenaceum* (0,43 % wszystkich grzybów), *F. equiseti* (1,9 %), *F. oxysporum* (18,8%), *F. solani* (0,51%), *F. sporotrichioides* (2,65%) i *Fusarium tricinctum* (1,1%). Ponadto z korzeni i podstawy źdźbła owsa wyizolowano kolonie należące do: *Bipolaris sorokiniana, Alternaria alternata, Aureobasidium pullulans, Chaetomium piluliferum, Cladosporium herbarum, Colletotrichum gleosporioides, Epicoccum nigrum, Humicola grisea, Mucor hiemalis, Papulaspora irregulare, Penicillium aurantiogriseum, Periconia macrospinosa, Rhizoctonia cerealis, Trichoderma aureoviride, Trichoderma koningii, Trichoderma viride,* form niezarodnikujacych.

Wnioski:
- Główną przyczyną chorób podsuszkowych owsa okazał się gatunek *Fusarium culmorum*.
- Przyjmując za kryterium oceny warość wskaźnika chorobowego, za najbardziej bezpieczny do uprawy, w warunkach zagrożenia porażeniem przez grzyby z rodzaju *Fusarium,* uznano ród hodowlany POB 7053/13.

2.3 Temat badawczy 3: Badania nad fuzariozą wiech owsa.

Cel tematu badawczego 3: Celem tematu było określenie nasilenia fuzariozy wiech wybranych genotypów owsa oraz ustalenie przyczyny tego schorzenia w różnych rejonach Polski – **cel osiągnięto w całości.**

Materiały i metody: Badania przeprowadzono w 2017 roku na polach Hodowli Roślin Danko Sp. z o. o. w Kopaszewie, Małopolskiej Hodowli Roślin HBP, Sp. z o. o. w Polanowicach oraz Hodowli Roślin Strzelce, Sp. z o. o., Gr IHAR. Objęto nimi 15 genotypów owsa: DC 06011-8, DC 07116-11/2 (Romulus), DC 14-8, DC 16-4, DC 16-5, STH 2.102, STH 4.376, STH 4.380, STH 7.12, STH 7.18, POB 6879/13, POB 6951/13, POB 7053/13, POB 7372/13, POB 7538/13. W fazie dojrzałości pełnej ziarna (92 w skali Zadoksa) określono procentowy udział wiech z objawami fuzariozy w trzech wyżej wymienionych lokalizacjach kraju – woj. małopolskie, woj. wielkopolskie i woj. łódzkie. Po 20 wiech każdego z 15 genotypów, z objawami chorobowymi, w każdej lokalizacji pobrano do badań laboratoryjnych. W laboratorium przeprowadzono analizę mykologiczną, do której przeznaczano po 100 ziarniaków i 100 plew każdego badanego genotypu owsa, z każdej analizowanej lokalizacji, sposób jej prowadzenia był taki jak w przypadku wcześniejszych badań owsa (Mielniczuk 2001, Kiecana i in. 2005).

Wyniki: Udział wiech z objawami fuzariozy na polach Hodowli Roślin Danko w Kopaszewie wahał się od 0,25% (DC 14-8; DC 16-5; STH 7.18; POB 6879/13; oraz POB 7053/13) do 0,5% (STH 4.376; POB 6951/13), przy czym w przypadku ośmiu genotypów nie zaobserwowano typowych dla fuzariozy oznak etiologicznych.

W wyniku analizy mykologicznej ziarniaków uzyskanych z wiech z objawami fuzariozy wzrastających na polach Hodowli Roślin Danko w Kopaszewie wyosobniono 1491 izolatów grzybów, w tym 1268 z ziarniaków kiełkujących i 223 z ziarniaków niekiełkujących. Analiza mykologiczna plew dostarczyła 1502 izolaty grzybów, przy czym gatunki z rodzaju *Fusarium* stanowiły 21,58% izolatów wszystkich grzybów otrzymanych z ziarniaków i plew owsa. Przyczyną fuzariozy wiech owsa uprawianego w woj. wielkopolskim – Hodowla Roślin Danko okazały się gatunki *F. poae, F. sporotrichioides, F. culmorum,* których izolaty stanowiły odpowiednio: 59,13%; 36,22% i 4,03% wszystkich *Fusarium* spp. uzyskanych z ziarniaków i plew analizowanych genotypów owsa. Ponadto z wiech owsa uzyskiwano kolonie należące do *F. oxysporum* (0,62%).

Odsetek wiech wykazujących objawy fuzariozy, ustalony na polach Małopolskiej Hodowli Roślin w Polanowicach wynosił od 0,5% (DC 14-8; DC 16-4; Romulus; POB 7053/13) do 2,0% (STH 7.18), przy czym w przypadku dwóch rodów hodowlanych nie zanotowano wiech z typowymi dla fuzariozy oznakami etiologicznymi.

Analiza mykologiczna ziarniaków i plew wyosobnionych z wiech z objawami fuzariozy wzrastających w woj. małopolskim - MHR Polanowice dostarczyła 2985 izolatów grzybów, w tym 1375 z ziarniaków kiełkujących, 112 z ziarniaków niekiełkujących i 1498 z plew. Wśród uzyskanych kolonii grzybów izolaty *Fusarium* spp. stanowiły 16,68 % ogółu wyosobnień z ziarniaków oraz plew i były reprezentowane przez: *F. poae, F. crookwellense, F. sporotrichioides, F.equiseti,* których izolaty stanowiły odpowiednio 74,51%, 10,44%,

6,02% i 5,62% wszystkich *Fusarium* spp. z ziarniaków i plew owsa. Kolonie należące do *F. oxysporum* stanowiły 0,41%.

Na polach Hodowli Roślin Strzelce procent wiech z objawami fuzariozy wahał się od 0,25% (DC 06011-8; STH 7.12) do 3,0% (Romulus). W przypadku tej lokalizacji prowadzonych badań nie zanotowano wiech wykazujących oznaki etiologiczne u dziewięciu genotypów.

W wyniku analizy mykologicznej ziarniaków i plew uzyskanych z wiech z objawami fuzariozy, wzrastających na polach Hodowli Roślin Strzelce wyosobniono 2956 izolaty grzybów, w tym 1094 z ziarniaków kiełkujących i 374 z ziarniaków niekiełkujących oraz 1488 z plew. Kolonie grzybów z rodzaju *Fusarium* stanowiły 24,15% ogółu wyosobnień z ziarniaków i i plew badanych genotypów owsa i były reprezentowane przez: *F. sporotrichioides* (54,34% wszystkich *Fusarium* spp. z ziarniaków i plew), *F. poae* (19,89% wszystkich *Fusarium* spp. z ziarniaków i plew), *F. culmorum* (13,45% wszystkich *Fusarium* spp.), *Fusarium chlamydosporum* (7.0%), *F. avenaceum* (3,64% wszystkich *Fusarium* spp.) i *F. oxysporum* (0,3%).

Wnioski:
- W badanych warunkach uprawy fuzarioza wiech owsa występowała w niewielkim nasileniu, udział porażonych wiech nie przekraczał 3,0 %.
- Fuzariozę wiech owsa w analizowanym sezonie wegetacji powodowały głównie gatunki *Fusarium poae, F. sporotrichioides* i *F. culmorum.*

2.4 Temat badawczy 4: Ocena podatności wiech 15 genotypów owsa na porażenie przez *Fusarium* spp. na podstawie ścisłego doświadczenia polowego.

Cel tematu badawczego 4: Celem tematu było wytypowanie genotypów charakteryzujących się najmniejszą podatnością na porażenie wiech przez trzy wybrane gatunki z rodzaju *Fusarium* na podstawie analizy elementów struktury plonu – **cel osiągnięto w całości.**

Materiały i metody: Podatność wiech wybranych 15 genotypów owsa (DC 06011-8, DC 07116-11/2 (Romulus), DC 14-8, DC 16-4, DC 16-5, STH 2.102, STH 4.376, STH 4.380, STH 7.12, STH 7.18, POB 6879/13, POB 6951/13, POB 7053/13, POB 7372/13, POB 7538/13) na porażenie przez *F. avenaceum* nr 7, *F. crookwellense* nr 72 i *F. equiseti* nr 20 określono na podstawie ścisłego doświadczenia polowego ze sztucznym zakażaniem wiech w fazie kwitnienia. Rośliny badanych genotypów owsa, których wiechy sztucznie zakażano zostały wysiane na poletkach doświadczalnych o powierzchni 10 m^2 każde. Materiał infekcyjny w przypadku każdego szczepu: *F. avenaceum, F. crookwellense* i *F. equiseti* stanowiła zawiesina konidiów, o zagęszczeniu $5x10^5$ zarodników • ml^{-1}, którą zakażano po 100 wiech każdego genotypu.

Inokulację wiech przeprowadzono przy pomocy rozpylacza ogrodniczego, używając 4 ml materiału infekcyjnego na 1 wiechę. Wiechy z kombinacji kontrolnej opryskano tylko wodą destylowaną. Po zakażeniu wiechy okrywano osłonami foliowymi i tym sposobem przez 24 godziny chroniono materiał zakaźny przed prądami powietrza i wysychaniem.

W fazie dojrzałości pełnej ziarna, wiechy zainokulowane każdym z trzech gatunków *Fusarium* i wiechy kontrolne ścinano, a następnie wydzielano ziarniaki i określono: liczbę ziarniaków w jednej wiesze, plon ziarna z 40 wiech (4x10 wiech) oraz masę 1000 ziaren.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie i wytypowano genotypy najmniej podatne na porażenie wiech przez *Fusarium* spp. Przeprowadzono także reizolację grzybów z ziarniaków ze wszystkich kombinacji doświadczenia celem potwierdzenia regół Kocha.

Wyniki: Na podstawie średniej z jednego roku badań, z kombinacji doświadczenia ze sztucznym zakażaniem wiech przez *F. avenaceum,* istotne różnice w liczbie ziarniaków w wiesze, w porównaniu do kontroli zanotowano w przypadku 11 analizowanych genotypów owsa. Najmniejszy ubytek liczby ziarniaków w wiesze w zanotowano u rodu hodowlanego POB 6951/13 – 0,6%, zaś największy u rodu hodowlanego DC06011-8 – 49,13%.

Statystycznie istotne różnice w plonie ziarna, w wyniku inokulacji wiech przez *F. avenaceum* zanotowano także u 12 genotypów owsa. Redukcja plonu ziarna w tej kombinacji doświadczenia wynosiła od 1,4% (STH 7.18) do 50,0% (DC06011-8).

Sztuczne zakażanie wiech przez *F. avenaceum* wpłynęło istotnie na obniżkę masy 1000 ziaren w przypadku 5 genotypów owsa. Ubytek masy 1000 ziaren *F. avenaceum* wahał się od 0 (POB7053/13) do 18,57% (STH 2.102).

Analiza statystyczna wykazała istotne różnice w liczbie ziarniaków w wiesze w wynikiu inokulacji wiech przez *F. crookwellense,* w przypadku 11 genotypów owsa.

Najmniejszy ubytek liczby ziarniaków w wiesze w wyniku porażenia przez tego patogena stwierdzono u rodu hodowlanego POB 6951/13 – 1,49%, najwiekszy zaś w przypadku rodu hodowlanego POB 6879/13 – 38,76%.

Na podstawie średniej z jednego roku badań stwierdzono, że sztuczne zakażanie wiech przez *F. crookwellense* wpłynęło istotnie na obniżkę plonu u 10 analizowanych genotypów owsa. Najmniejszy ubytek plonu ziarna z 10 wiech w kombinacji doświadczenia z *F. crookwellense* zanotowano w przypadku rodu hodowlanego STH 4.380 – 0,99%, największyy zaś u rodu hodowlanego POB 6879/13 – 45,97%.

Sztuczne zakażanie wiech przez *F. crookwellense* wpłynęło istotnie na obniżenie masy 1000 ziaren u 2 badanych genotypów owsa. Redukcja MTZ wynosiła od 0,0% (STH 7.12, STH 7.18) do 17,94% (POB 7538/13).

W przypadku sztucznego zakażania wiech przez *F. equiseti* istotne różnice w liczbie ziarniaków w wiesze, w porównaniu do kontroli zanotowano u 10 genotypów owsa, zaś w plonie ziarna u 11 genotypów. Stwierdzono również, że sztuczne zakażanie wiech przez tego patogena wpłynęło istotnie na obniżkę masy 1000 ziaren w przypadku 3 genotypów owsa.

Ubytek liczby ziarniaków w wiesze w kombinacji doświadczenia z *F. equiseti* wynosił od 0,49% (STH 4.376) do 45,48% (POB 7538/13). Natomiast redukcja plonu ziarna w wynosiła od 5,82% (STH 7.18) do 45,0% (POB 7538/13).

Obniżka MTZ u badanych genotypów owsa w tej kombinacji doświadczenia wynosiła od 0,0 (POB 7053/13) do 9,40% (DC 16-5).

Analiza mykologiczna ziarna ze wszystkich kombinacji doświadczenia potwierdziła, że przyczyną porażenia wiech były gatunki użyte do inokulacji.

Wnioski:

- Spośród badanych szczepów *Fusarium* spp. najbardziej szkodliwym dla wiech analizowanych genotypów owsa, w badanych warunkach uprawy w 2017 r. okazał się szczep nr 7 *F. avenaceum,* który średnio obniżył plon ziarna o 25,71%.
- Najbardziej podatnym na porażenie wiech przez trzy badane gatunki z rodzaju *Fusarium* okazał się ród hodowlany POB 7538/13, w przypadku którego zanotowano obniżkę plonu ziarna na poziomie 39,6%. Najmniej podatnym był ród hodowlany STH 7.18, dla którego redukcja plonu ziarna wynosiła 4,6%.

2.5 Temat badawczy 5: Analiza chemiczna ziarniaków owsa pochodzących z wiech inokulowanych *Fusarium* spp. na obecność fuzariotoksyn.

Cel tematu badawczego 5: Celem tematu było określenie jakościowe i ilościowe zanieczyszczenia ziarna owsa mykotoksynami wytwarzanymi przez *Fusarium* spp. – **cel osiagnięto w całości.**

Materiały i metody: Materiał badawczy w 2017 roku stanowiły próby ziarna 15 genotypów owsa (DC 06011-8, DC 07116-11/2 (Romulus), DC 14-8, DC 16-4, DC 16-5, STH 2.102, STH 4.376, STH 4.380, STH 7.12, STH 7.18, POB 6879/13, POB 6951/13, POB 7053/13, POB 7372/13, POB 7538/13) pochodzącego z wiech inokulowanych *F. avenaceum* nr 7, *F. crookwellense* nr 72 i *F. equiseti* nr 20. W ziarniakach pochodzących z wiech zakażanych *F. avenaceum* oznaczono zawartość moniliforminy, w ziarnie inokulowanym *F. equiseti* określono obecność związków trichotecenowych z gr A i B, zaś w przypadku ziarna porażonego przez *F. crookwellense* określono zawartość związków trichotecenowych z grupy B oraz zearalenonu.

Materiał badawczy	**Analizowane mykotoksyny**
Ziarno z wiech 15 genotypów owsa inokulowanych przez *F. avenaceum*	- Moniliformina
Ziarno z wiech 15 genotypów owsa inokulowanych przez *F. crookwellense*	- Związki trichotecenowe z gr. B - Zearalenon
Ziarno z wiech 15 genotypów owsa inokulowanych przez *F. equiseti*	- Związki trichotecenowe z gr A - Związki trichotecenowe z gr. B

Analiza zawartości moniliforminy: Próby ziarna po uprzednim zmieleniu, poddano ekstrakcji mykotoksyn i po przesączeniu przez sączek Whatman nr 4, poddano procesowi oczyszczania. Moniliformina została oznaczona metodą wysokociśnieniowej chromatografii cieczowej (HPLC) z wykorzystaniem zestawu aparatury Waters 501, Waters 486 UV detektor przy λ_{max}=229 nm oraz kolumny C_{18} Nova Pack 3,9 x 300 mm przy następujących parametrach rozdziału: faza ruchoma: buforowana mieszaniną (50 cm^3 40% wodorotlenku *t*-butylowo-amonowego oraz 100 cm^3 1,1 M roztworu KH_2PO_4 w wodzie dejonizowanej), której to fazy 10 cm^3 dodawano do 1 dm^3 roztworu acetonitryl : woda (15: 85, v/v); przepływ: 0,6 cm^3/min; objętość dozowania: 20 µl; czas retencji: 9,32 min; próg wykrywalności: 20 ng/g.

Analizę zawartości trichotecenów grupy A i B przeprowadzono po wcześniejszej ekstrakcji analizowanych związków acetonitryl – woda 82 : 18 (v/v) oraz oczyszczaniu metodą ekstrakcji do fazy stałej. Trichoteceny grupy A analizowano jako pochodne trifluoroacetylowe, natomiast trichoteceny grupy B analizowano jako pochodne trimetylosililowe. Rozdział chromatograficzny oraz analiza prowadzona była oddzielnie za pomocą chromatografu gazowego (Hewlett Packard 6890) na kolumnie kapilarnej (HP-5MS, 0,25mm x 30 m) sprzężonego z detektorem masowym (Hewlett Packard 5972 A). Analiza wykonywana była w trybie szukania wybranych jonów (SIM). Dla trichotecenów grupy A były to: STO 456 i 555; T-2 tetraol 455 i 568; T-2 triol 455 i 569; DAS 402 i 374; HT-2 455 i 327; T-2 327 i 401. Natomiast dla trichotecenów grupy B: dla DON 103 i 512; 3-AcDON 117 i 482; 15-AcDON 193 i 482; FUS 103 i 570; NIV 191 i 600. Szybkość przepływu helu wynosiła 0,7 cm3/min. Celem potwierdzenia obecności w próbie oznaczanych toksyn wykonana została analiza w pełnym zakresie mas (od 100 – 700 amu). Otrzymane wyniki poddano obróbce w programie Chem Station. Odzysk dla analizowanych toksyn wynosi: T-2

86±3,8%; T-2 tetraol 88±4,0%; HT-2 91±3,3%; DAS 84± 4,6%; DON 84±3,8%; 3AcDON 78±4,8%; 15 AcDON 74±2,2%; NIV 81±3,8%. Natomiast limit detekcji dla analizowanych toksyn wynosi 0,001 mg/kg.

Analiza zawartości zearalenonu: Uzyskane po zbiorze próby ziarna po uprzednim zmieleniu, poddano ekstrakcji mykotoksyn i po przesączeniu poddane procesowi oczyszczania na kolumienkach powinowactwa immunochemicznego firmy Vicam®. Odparowana do sucha pozostałość rozpuszczana została w 200 µl mieszaniny acetonitryl : metanol : woda (70:20:10, v/v/v), a następnie była homogenizowana w łaźni ultradźwiękowej i dozowana na kolumnę. Identyfikacja jakościowa i ilościowa zearalenonu została wykonana metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z zastosowaniem aparatu Waters 2695, z zestawem detektorów Multi Fluorescence Detector Waters 2475, Photodiode Array Detector Waters 2996 oraz kolumną C18 Nova Pak 3,9×150 mm. Fazę nośną stanowiła mieszanina rozpuszczalników: acetonitryl: woda: metanol (46:46:8, v/v/v), rozdział został dokonany przy przepływie 0,5 ml/min i limicie detekcji 0,3 ng/g.

Wyniki: W ziarnie 15 genotypów owsa pochodzącym z wiech inokulowanych *F. avenaceum* stwierdzono obecność moniliforminy w ilości od 0,067 $mg \cdot kg^{-1}$ (STH 4.380) do 1,022 $mg \cdot kg^{-1}$ (DC 06011-8) (średnio 0,486 $mg \cdot kg^{-1}$).

W ziarnie owsa pochodzącym z wiech inokulowanych *F. crookwellense* stwierdzono obecność: deoksynivalenolu (DON), którego stężenie wahało się od 0,165 do 1,027 $mg \cdot kg^{-1}$, średnio 0,574 $mg \cdot kg^{-1}$, 3- AcDON w ilości od 0,016 do 0,179 $mg \cdot kg^{-1}$, średnio 0,574 $mg \cdot kg^{-1}$, 15-AcDON od 0,029 do 0,752 $mg \cdot kg^{-1}$, średnio 0,200 $mg \cdot kg^{-1}$, niwalenolu (NIV) od 0,019 do 0,204 $mg \cdot kg^{-1}$, średnio 0,079 $mg \cdot kg^{-1}$, fuzarenonu-X (FUS-X) od 0,006 do 0,083, średnio 0,035 $mg \cdot kg^{-1}$. Ponadto w ziarnie badanych rodów hodowlanych owsa, po inokulacji wiech przez *F. crookwellense* stwierdzono obecność zearalenonu na poziomie od 0 do 31,05, średnio 13,74 $mg \cdot kg^{-1}$.

W próbach ziarna wszystkich badanych genotypów owsa po inokulacji wiech przez *F. equiseti* oznaczono trichoteceny z grupy A: HT- 2 toksynę od 0,001 do 0,042, średnio 0,160 $mg \cdot kg^{-1}$, diacetoksycirpenol w ilościach od 0,002 do 0,072, średnio 0,018 $mg \cdot kg^{-1}$; scirpentriol w ilościach od 0,001 do 0,021, średnio 0,018 $mg \cdot kg^{-1}$; T-2 tetraol od 0,001 do 0,018, średnio 0,006 $mg \cdot kg^{-1}$. W próbach 9 rodów hodowlanych owsa wykryto zawartość T-2 toksyny, w stężeniu od 0,001 do 0,016, średnio 0,005 $mg \cdot kg^{-1}$. T-2 triol stwierdzono w próbach ziarna 9 rodów hodowlanych, jego zawartość wynosiła od 0,001 do 0,009, średnio 0,002 $mg \cdot kg^{-1}$.

W próbach ziarna pochodzących z tej kombinacji doświadczenia oznaczono także trichoteceny z grupy B. Stężenie deoksyniwalenolu (DON) w ziarniakach porażonych przez *F. equiseti* wynosiło od 0,006 do 0,117, średnio 0,049 $mg \cdot kg^{-1}$, zaś u 13 genotypów owsa stwierdzono występowanie 3-AcDON od 0,001 do 0,030, 0,011 $mg \cdot kg^{-1}$ oraz 15- AcDON stwierdzono od 0,001 do 0,034, średnio 0,012 $mg \cdot kg^{-1}$. Stężenie niwalenolu (NIV) wynosiło 0,032 do 0,685, średnio 0,242 $mg \cdot kg^{-1}$, natomiast średnie stężnie fuzarenonu X wynosiło 0,008 $mg \cdot kg^{-1}$ (0,001 – 0,027 $mg \cdot kg^{-1}$).

Wnioski:

- Szkodliwość gatunków *F. avenaceum, F. crookwellense* i *F. equiseti* dla owsa potęguje zdolność do wytwarzania metabolitów wtórnych, toksycznych dla organizmów stałocieplnych.

- Zróżnicowany poziom zawartość mykotoksyn w ziarnie uwarunkowany jest cechami genetycznymi uprawianych genotypów oraz przebiegiem pogody w danym sezonie wegetacji.

2.6 Temat badawczy 6: Analiza chemiczna wybranych metabolitów wytwarzanych przez szczepy *Bipolaris sorokiniana* i *Drechslera* spp.

Cel tematu badawczego 6: Celem tematu jest określenie jakościowe metabolitów wytwarzanych przez wybrane szczepy *Bipolaris sorokiniana* i *Drechslera* spp.

Materiały i metody: Izolaty grzybów *Bipolaris sorokiniana* i *Drechslera avenae* uzyskano z liści owsa wykazujących objawy plamistości. W pierwszym etapie wykonano kultury jednozarodnikowe metodą wielokrotnych rozcieńczeń (Raiłło 1950). Uzyskane czyste kultury grzybów (po 10 izolatów każdego gatunku) przeszczepiono na podłoże standardowe (Malt Extract Agar, gotowy produkt firmy Difco, używając 33,6 g podłoża na 1 litr wody) i inkubowano w termostacie, w temperaturze 23-24°C przez 20 dni. W badaniach dotyczących wzrostu i zarodnikowania grzybów *Bipolaris sorokiniana* i *Drechslera avenae*, uwzględniono kultury 10 izolatów *B. sorokiniana* - nr: 1, Ost 20, Ost 23, Oz 39, Oz 49, Oz 54, Ost 63, Ost 64, Oz 114, Oz 120 oraz taką samą liczbę izolatów *D. avenae* nr*:* 2, 6, 9, 12, 16, 19, 28, 31, 34, 70. Kolonie scharakteryzowano pod względem ich struktury oraz cech morfologicznych. Następnie kultury reprezentatywne – po pięć izolatów obydwu analizowanych gatunków grzybów przeznaczono do badań biochemicznych.

Zdolności analizowanych szczepów grzybów do produkcji metabolitów określono na podłożu ryżowym. W tym celu w kolbach Erlenmayera o pojemności 500 ml umieszczano po 100 g ziarna ryżu, 30 ml wody destylowanej i pozostawiano na 24 godziny, po czym zostały wysterylizowane w autoklawie, w temperaturze 121°C, przy ciśnieniu 1 atmosfery, przez 30 min. Po ostudzeniu podłoże zaszczepiono inokulum wytypowanych szczepów *B. sorokiniana* i *Drechslera avenae*, a następnie inkubowano w termostacie, w temperaturze 22°C, bez dostępu światła przez 4 tygodnie. Po tym czasie ziarniaki przerośnięte grzybnią wysuszono, zmielono i przeznaczone do analizy chemicznej.

Analiza jakościowa metabolitów wytwarzanych przez wybrane szczepy grzybów: Analiza zawartości związków antrachinonowych przeprowadzona została przy wykorzystaniu aparatu UPLC Acquity (Waters, USA) wyposażonego w detektor diodowy i kolumnę BEH C_{18} (150×2,1mm, Waters). Rozdział przeprowadzono stosując gradient odczynników: (A) wodny roztwór kwasu mrówkowego (0,1%) oraz (B) acetonitryl-roztwór A (80:20). Prędkość przepływu eluenta wynosiła 0,6 ml/min przy zastosowaniu następującego programu: 60% roztworu B przez 1min, liniowy gradient do 99% B w 12,5 min, 99% roztworu B przez 1,5 min, powrót do 60% roztworu B w 1 min, równoważenie kolumny (3 min). Chromatogramy rejestrowano przy długości fali 230 i 445 nm, a widma UV/vis poszczególnych związków w zakresie 210-600 nm.

Pojedyncze związki otrzymywano w wyniku preparatywnej chromatografii ekstraktu w odwróconej fazie na kolumnie (58x1,5cm) z wypełnieniem C_{18} (Aldrich, USA) eluowanej roztworami acetonitrylu w wodzie o wzrastających stężeniach. Oczyszczone związki poddawano spektrometrii NMR (Jądrowy rezonans magnetyczny), i widma ^{1}H, ^{13}C oraz korelacyjne wykonywane na instrumencie Bruker Avance 600 MHz posłużyły do potwierdzenia struktur badanych związków.

Wyniki:

Na podstawie obserwacji badanych izolatów ***B. sorokiniana*** i ***D. avenae*** wyróżniono po dwie grupy o zróżnicowanym wyglądzie kolonii. Izolaty ***B. sorokiniana*** należące do I

grupy nr: 1, Ost 23, Oz 49, tworzyły niskie kolonie, o aksamitnej strukturze, koloru czarnego. Brzeg kolonii był nieregularny, z licznymi wcięciami. Kolonie tych izolatów rosły wolno, osiągały średnicę 90 mm po 15 - 20 dniach hodowli. Zarodniki konidialne tworzyły się po 4-6 dniach hodowli. Kolonie izolatów *B. sorokiniana* nr: Ost 20, Oz 39, Oz 54, Ost 63, Ost 64, Oz 114, Oz 120 zaliczone do grupy II były niskie, welwetowe, brunatno-czrne, z jasnymi koremiami i widoczną wydzieliną. Zarodniki konidialne formowały się po 5-7 dniach hodowli. Pięć izolatów *B. sorokiniana* wybranych z poszczególnych grup – nr: 1, Ost 20, Oz 49, Ost 64, Oz 114, przeznaczono do analizy biochemicznej.

Porównując cechy makroskopowe, szybkość wzrostu kolonii oraz zarodnikowanie 10 izolatów ***D. avenae***, wydzielono dwie grupy o jednakowych cechach. Do I grupy zaliczono pięć izolatów nr: 2, 9, 12, 28, 31, o grzybni jasno szarej, watowatej, z białymi lekko wzniesionymi koremiami, tworzącymi się głównie w centralnej części kolonii. Izolaty *D. avenae* należące do tej grupy rosły szybko, po 9-10 dniach osiągnęły średnicę 90 mm. Konidiofory i konidia tworzyły się po 10-14 dniach hodowli.

II grupę stanowiły izolaty *D. avenae* nr: 6, 16, 19, 34, 70, których kolonie były filcowate, o barwie ciemnoszarej, bez koremiów. Szczepy zaliczone do II grupy rosły nieco wolniej od szczepów I grupy. Średnicę 90 mm osiągały po 12-14 dniach wzrostu. Konidiofory i konidia tworzyły się po 9-10 dniach inkubacji. Dwa szczepy *D. avenae* z I grupy oraz trzy szczepy z II grupy przeznaczono do analizy biochemicznej.

Badania biochemiczne wykazały, że spośród użytych rozpuszczalników organicznych używanych do ekstarakcji badanych związków wytwarzanych przez *Bipolaris sorokiniana* i *Drechslera avenae* (metanol, etanol, aceton, octan etylu, chloroform) najwyższą wydajność ekstrakcji uzyskano przy użyciu octanu etylu i ten rozpuszczalnik zastosowano do dalszych prac.

Stwierdzono, że wszystkie przebadane izolaty *Drechslera avenae* wytwarzały cztery związki antrachinonowe, jednak zarówno ich całkowita ilość na pożywce, jak i stosunki ilościowe różniły się między izolatami. Najwydajniejszy był proces biosyntezy antrachinonów u izolatu DA2, dla którego suma zawartości wszystkich związków wynosiła 730,1 jednostek arbitralnych (j.a., suma pól powierzchni wszystkich wierzchołków chromatograficznych), natomiast najmniejszą wydajność zaobserwowano dla izolatu DA16 – 21,5 j.a. Pośrednie wartości zaobserwowano dla izolatów DA6 (135,9 j.a.), DA12 (54,5 j.a.) i DA 19 (48,5 j.a.). Poszczególne związki wytwarzane były przez poszczególne izolaty w różnych proporcjach, przedstawionych w tabeli 1. **Związek 1** wytwarzany był w najmniejszych ilościach i nie został znaleziony uprzednio w izolatach *D. avenae* (Cegiełko i in. 2011). Porównując obecnie uzyskane wyniki z danymi opublikowanymi poprzednio (Kachlicki i Wakuliński 2002; Cegiełko i in. 2011) można stwierdzić, że **związki 3** i **4** są to odpowiednio **helmintosporyna i cynodontyna**.

Chromatogramy związków antrachinonowych wyizolowanych z kultur grzyba *Bipolaris sorokiniana* są zdominowane przez obecność wierzchołka o czasie retencji 5,17 min. W wierzchołku tym wymywane są dwa związki, różniące się nieco widmami absorpcyjnymi w UV, których rozdział jednak nastręcza pewnych trudności. Podejmowane są obecnie próby rozfrakcjonowania tych dwóch związków w celu określenia ich struktur metodami spektroskopowymi. Pozostałe związki są obecne w badanych ekstraktach w niewielkich ilościach i na załączonych wykresach przedstawino ich widma UV.

Wnioski:

- Badane izolaty *Bipolaris sorokiniana* i *Drechslera avenae* różnią się morfologicznie oraz pod względem zdolności do biosyntezy metabolitów wtórnych

3. Prezentacja wyników badań

Prezentacja wyników na konferencjach				
lp.	konferencja	Prezentacja	liczba prezentacji	Liczba prezntacji
1.	Konferencja naukowa „*Dziś i jutro fitopatologii”,* Polskie Towarzystwo Fitopatologiczne i Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, 13-15 września 2017 r.	Elżbieta Mielniczuk, Irena Kiecana, Malgorzata Cegiełko, Alina Pastucha: Grzyby zasiedlające wiechy owsa (*Avena sativa* L.) wzrastającego w południowej i centralnej Polsce Małgorzata Cegiełko, Irena Kiecana, Elżbieta Mielniczuk, Alina Pastucha: Szkodliwość *Drechslera avenae* (Eidam) Scharif dla liści wybranych genotypów owsa (*Avena sativa* L.)	2	2
2.	XIII Ogólnopolska Konferencja Naukowa: Nauka dla hodowli i nasiennictwa roślin uprawnych, Zakopane 30.01-03.02. 2017:	Elżbieta Mielniczuk, Irena Kiecana, Juliusz Perkowski, Małgorzata Cegiełko, Alina Pastucha: Badania nad fuzariozą wiech owsa z uwzględnieniem szkodliwości *Gibberella avenacea* R. J. Cook (anamorfa *Fusarium avenaceum*) dla wybranych genotypów tego zboża,	1	1
Publikacje w monografiach/czasopismach recenzowanych				
lp.	monografia/czasopismo	rodzaj publikacji[2]	liczba publikacji podana w opisie zadania	Liczba publikacji zrealizowana
1	Cereal Research Communication DOI 10.1556/0806.45.2017.100	Małgorzata Cegiełko, Irena Kiecana, Elżbieta Mielniczuk, Alina Pastucha, Juliusz Perkowski: Reduction of yield and mycotoxins accumulation in oats genotypes after *Gibberella intricans* inoculation - oryginalna	1	1

[2] Podać, czy planowana jest publikacja oryginalna, czy np. polemika, list do edytora, rozdział w monografi etc.