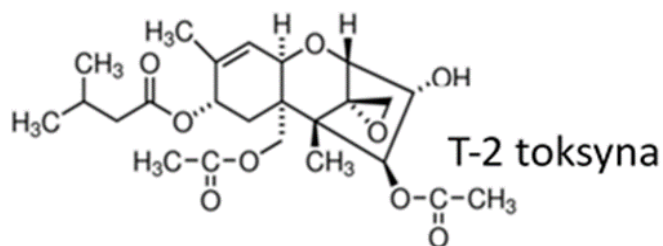
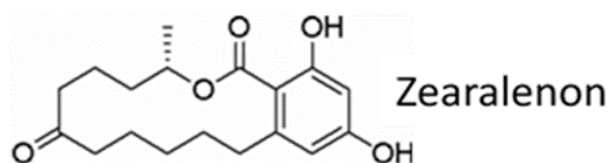
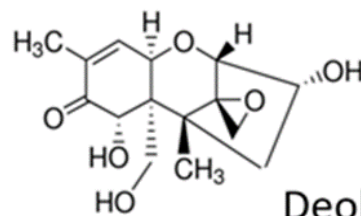


Skład gatunkowy grzybów z rodzaju *Fusarium* powodujących fuzariozę kłosów pszenicy oraz skażenie ziarna toksynami fuzaryjnymi w latach 2014 i 2015



Program Wieloletni

„Tworzenie naukowych podstaw postępu biologicznego i ochrona roślinnych zasobów genowych źródłem innowacji i wsparcia zrównoważonego rolnictwa oraz bezpieczeństwa żywnościowego kraju”
finansowany przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi;



Zadanie 3.4

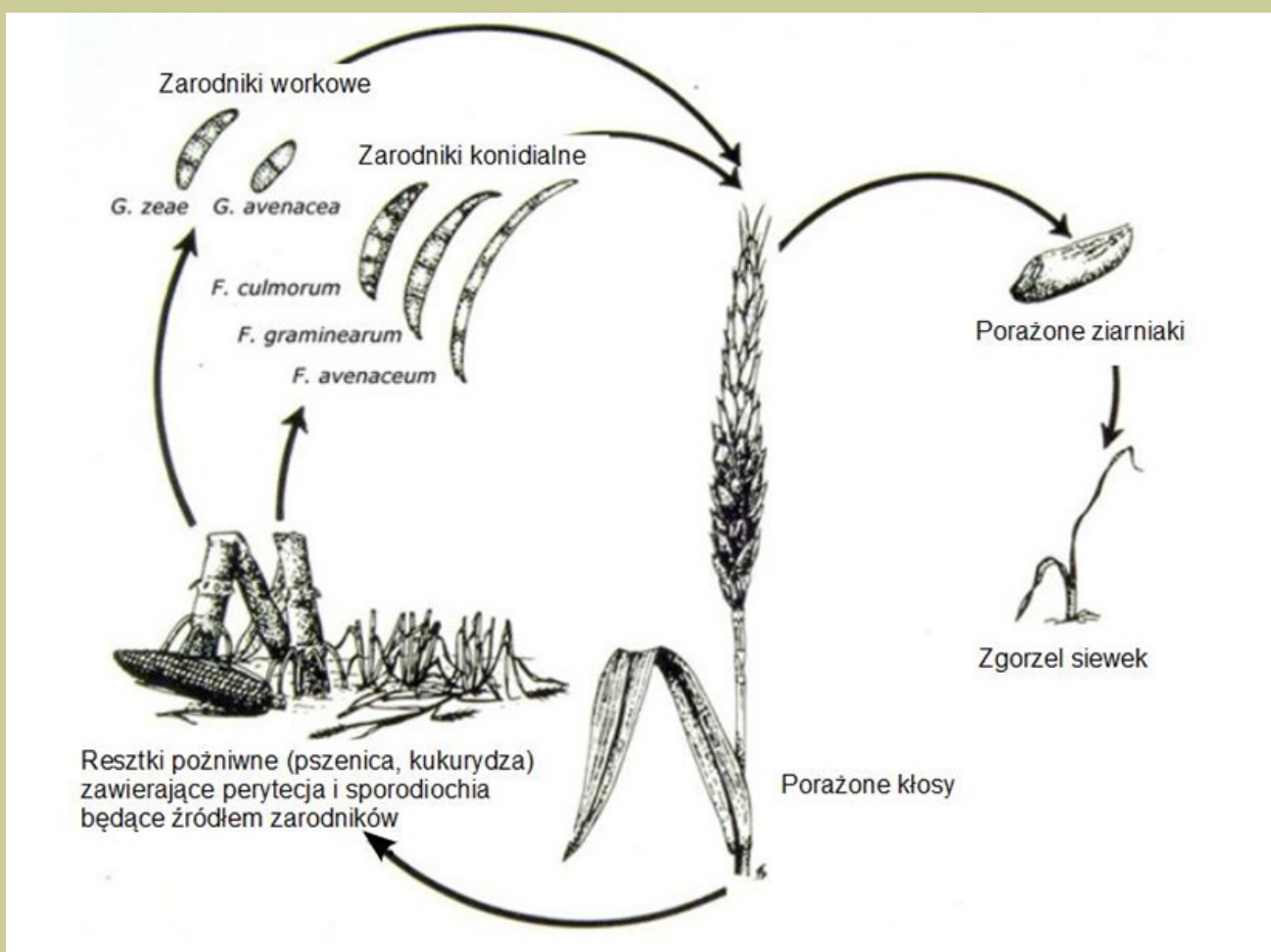


Objawy fuzariozy kłosów na pszenicy oraz uszkodzenia ziarniaków pszenicy przez *Fusarium* (fot. T. Góral)

Fuzarioza kłosów pszenicy

W ostatnich latach fuzarioza kłosów (*Fusarium* spp.) jest postrzegana, jako choroba, której znaczenie wzrasta w wielu częściach Europy, w tym np. w Niemczech, we Francji, w Danii, we Włoszech i na Węgrzech. Choroba jest poważnym problemem ze względu na wytwarzanie mykotoksyn przez grzyby ją powodujące. Mykotoksyny stanowią zagrożenie dla zdrowia ludzi zwierząt. Kłosa pszenicy porażane są przez wiele gatunków *Fusarium*, z których najważniejsze to *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae* i *F. langsethiae*. *Microdochium nivale* i *M. majus* również porażają kłosa pszenicy i mogą powodować fuzariozę kłosów. Jednakże gatunki z rodzaju *Microdochium* nie produkują mykotoksyn; są one natomiast główną przyczyną zgorzeli siewek i pleśni śniegowej. Pojedynczy kłos może być w wielu przypadkach porażony przez kilka gatunków *Fusarium*. Nasilenie choroby zależy głównie od warunków pogodowych podczas kwitnienia oraz kombinacji różnych czynników agrotechnicznych. Stosowanie odpowiedniej agrotechniki może przyczynić się do zmniejszenia ryzyka wystąpienia fuzariozy kłosów, bez konieczności stosowania ochrony chemicznej. Fungicydy stosowane podczas kwitnienia pszenicy mogą redukować porażenie kłosów jednakże w warunkach bardzo korzystnych dla rozwoju choroby zadowalający poziom ochrony jest trudny do uzyskania.

Rysunek 1. Cykl życiowy grzybów *Fusarium* spp. na pszenicy



Źródło: Schmale III, D.G. and G.C. Bergstrom. 2003

Mykotoksyny fuzaryjne

Mykotoksyny fuzaryjne to toksyczne związki chemiczne wytwarzane przez grzyby z rodzaju *Fusarium* porażające kłosa pszenicy i innych zbóż (Tabela 1). Mykotoksyny wytwarzane są w polu podczas procesu zasiedlania kłosów i ziarniaków przez *Fusarium*. Ich zawartość rzadko wzrasta po zbiorze ziarna. Kłosa infekowane są przez gatunki z rodzaju *Fusarium* podczas kwitnienia pszenicy. Infekcji sprzyja ciepła i wilgotna pogoda w tym okresie. Na zainfekowanych kłosach pszenicy pojawiają się pojedyncze bielejące kłoski lub bieleją całe fragmenty kłosów (szczególnie górna część kłosa). Rezultatem porażenia kłosa jest obecność różowych lub kredowo białych pomarszczonych ziarniaków podczas zbioru. Stopień porażenia kłosa w polu nie zawsze koreluje z zawartością mykotoksyn w ziarnie.

Tabela 1. Główne gatunki *Fusarium* występujące na kłosach pszenicy w Polsce i najważniejsze mykotoksyny przez nie produkowane

Gatunek	Znaczenie w Polsce	Mykotoksyny
<i>F. graminearum</i> (chemotypy DON)	+++	DON, ZEN
<i>F. graminearum</i> (chemotyp NIV)	+	niwalenol, ZEN
<i>F. avenaceum</i>	+++	moniliformina
<i>F. culmorum</i> (chemotyp DON)	+++	DON, ZEN
<i>F. culmorum</i> (chemotyp NIV)	+	niwalenol, ZEN
<i>F. poae</i>	+++	niwalenol, bewerycyna, T-2, H-T2
<i>F. langsethiae</i>	+	T-2, H-T2, diacetoksycirpenol
<i>F. sporotrichioides</i>	+	T-2, H-T2, diacetoksycirpenol, bewerycyna

W Unii Europejskiej obowiązują prawne ograniczenia zawartości mikotoksyny fuzaryjnych deoksyniwaleolu (DON) i zearalenonu (ZEN) oraz zalecenia dla zawartości toksyn T-2 i HT-2 w ziarnie pszenicy przeznaczonym do spożycia przez ludzi (Tabela 2) i opracowano wytyczne, co do zawartości tych mykotoksyn w ziarnie przeznaczonym na pasze (Tabela 3).

Tabela 2. Oficjalne limity zawartości mikotoksyn (mg/kg) w ziarnie zbóż (bez kukurydzy) przeznaczonym na cele żywnościowe

Produkt	DON	Zearalenon
Nieprzetworzone ziarno zbóż	1,25	0,10
Nieprzetworzone ziarno pszenicy twardej i owsa	1,75	0,10
	Toksyne T-2 i HT-2	
Nieprzetworzone ziarno jęczmienia	0,20	
Nieprzetworzone ziarno owsa	1,00	
Nieprzetworzone ziarno zbóż	0,10	
Ziarno zbóż do bezpośredniego spożycia przez ludzi	0,05	
Ziarno owsa do bezpośredniego spożycia przez ludzi	0,20	

Źródło: Rozporządzenia Komisji Nr 1126/2007/UE oraz Zalecenie Komisji Nr 2013/165/UE

Tabela 3. Unijne wytyczne poziomów mikotoksyn (mg/kg) w ziarnie zbóż (bez kukurydzy) przeznaczonym do żywienia zwierząt.

Produkt	DON	Zearalenon	Toksyne T-2 i HT-2
Zboża i produkty zbożowe	8,00	2,00	0,50 (2,00**)
Kompletna pasza z wyjątkiem	5,00		0,25
- Świń	0,90	0,25(0,10*)	
- Cieląt, jagniąt i koźląt	2,00		
- Cieląt, bydła mlecznego, owiec (w tym jagniąt) i kóz (w tym koźląt)		0,50	

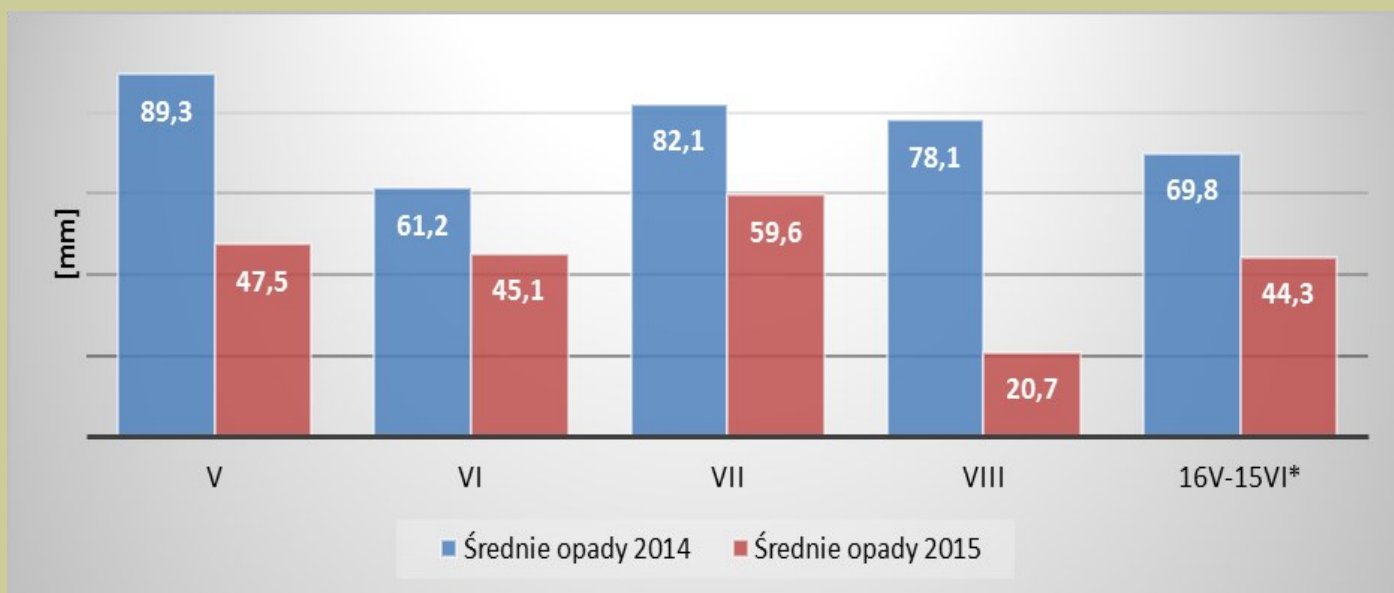
* Pasza przeznaczona dla prosiąt lub loszek; ** Owies

Źródło: Zalecenie Komisji z dnia 17 sierpnia 2006 r. (2006/576/WE)

Badanie zawartości biomasy *Fusarium* i toksyn fuzaryjnych w ziarnie pszenicy ozimej w latach 2014 i 2015

W celu określenia zasiedlenia ziarna pszenicy przez różne gatunki *Fusarium* oraz zawartości toksyn fuzaryjnych (DON, ZEN, T-2/HT-2) zebrano próby ziarna pszenicy odmian Arkadia i Bamberka z 20 Stacji Doświadczalnych Oceny Odmian COBORU w latach 2014 i 2015. Próby pochodziły z poletek doświadczalnych, na których nie stosowano ochrony chemicznej przeciwko chorobom grzybowym pszenicy.

Obecność oraz ilość biomasy (DNA) grzybów *Fusarium* oraz ich skład gatunkowy określano za pomocą techniki real-time PCR (ilościowa reakcja PCR). Zawartość toksyn fuzaryjnych oznaczano za pomocą techniki chromatografii gazowej oraz testów immunoenzymatycznych.



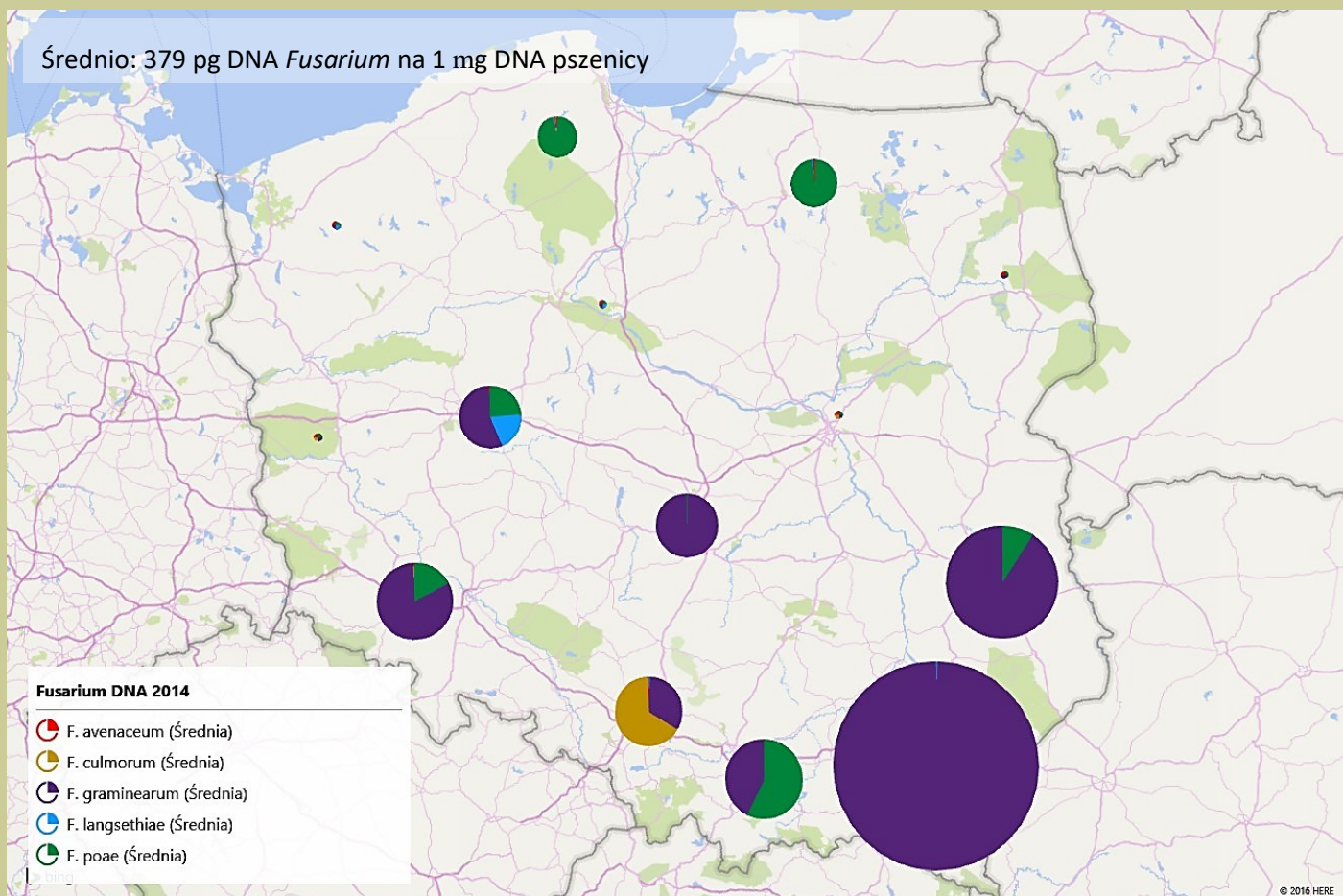
Rysunek 2. Średnie miesięczne sumy opadów dla miejscowości, z których pochodziły badane próby ziarna
* - - okres od kłoszenia do zakończenia kwitnienia pszenicy

W roku 2015 suma opadów w okresie maj – sierpień była prawie dwukrotnie niższa niż w roku 2014 (Rys. 2). Opady w okresie kłoszenia i kwitnienia pszenicy w roku 2015 były o około 30% niższe niż w roku 2014.

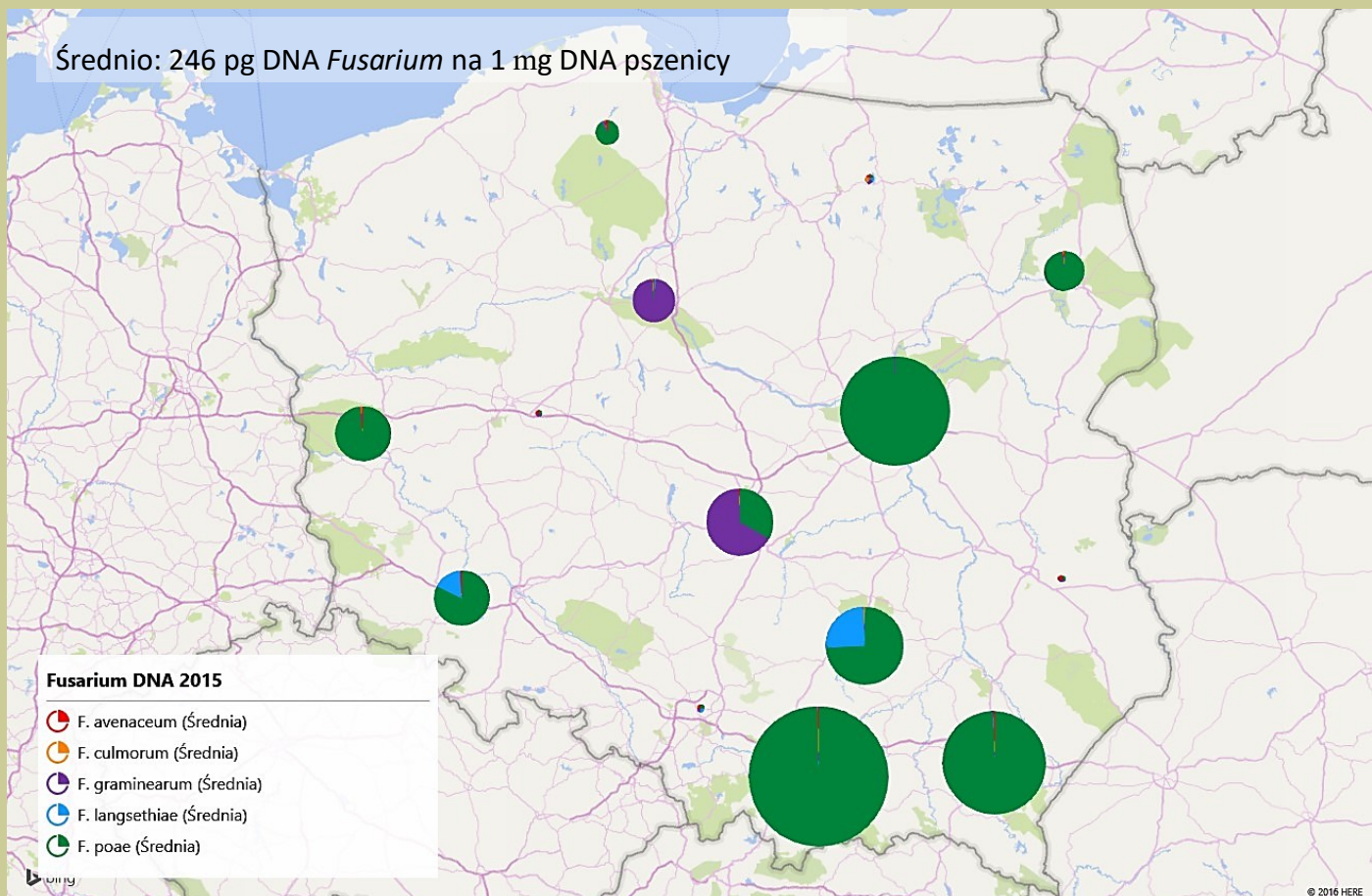
W roku 2014 dominował gatunek *F. graminearum* który był obecny we wszystkich badanych próbach (Rys. 3). We wszystkich próbach wystąpiły też gatunki *F. avenaceum* i *F. poae*, z tym że ten pierwszy jedynie w ilościach śladowych. *F. langsethiae* wystąpił w 50% prób, natomiast *F. culmorum* w 45%. Najwięcej DNA *Fusarium* stwierdzono w próbach z województw podkarpackiego i lubelskiego. W obu województwach dominował gatunek *F. graminearum*.

W roku 2015 zawartość biomasy *Fusarium* była o 50% niższa. Dominował gatunek *F. poae* który był obecny we wszystkich próbach w ilości 4-krotnie wyższej niż w roku 2014 (Rys. 4). We wszystkich próbach wystąpiły też *F. avenaceum* i *F. graminearum*, z tym że ten pierwszy jedynie w ilościach śladowych, natomiast drugi w niewielkiej ilości (9% zawartości z roku 2014). W ilościach śladowych wystąpił też gatunek *F. culmorum* obecny w 55% prób. Podobnie jak w roku 2014 *F. langsethiae* wystąpił w 50% prób. Najwięcej DNA *Fusarium* stwierdzono w próbach z województw małopolskiego, mazowieckiego i podkarpackiego. We wszystkich tych województwach dominował gatunek *F. poae*.

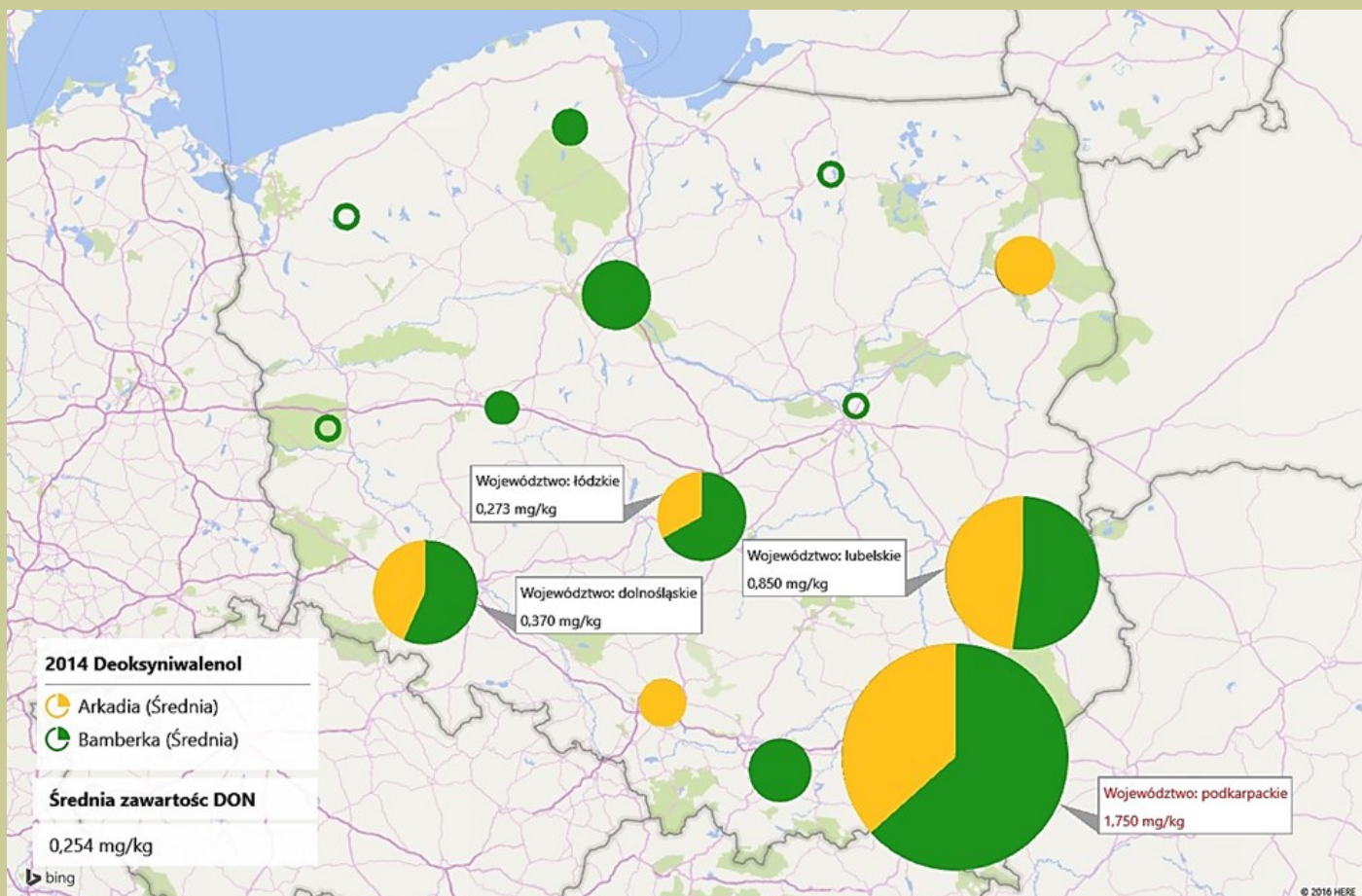
Średnia zawartość DON w 2014 r. była stosunkowo niska i wyniosła 0,254 mg/kg (Rys. 5). Wartość średnia zawartości DON dla odmiany Arkadia 0,255 mg/kg (0 - 1,280 mg/kg) była niższa niż dla odmiany Bamberka - 0,273 mg/kg (0 - 2,220 mg/kg). Brak było istotnej różnicy pomiędzy odmianami. W 2 próbach na 46 przekroczone były limity zawartości DON w pszenicy na cele żywnościowe. Próby te pochodziły z województwa podkarpackiego. Wysoka zawartość DON (poniżej limitów) stwierdzona została także w próbach z województwa lubelskiego.



Rysunek 3. Zawartości biomasy (DNA) grzybów *Fusarium* w ziarnie pszenicy ozimej oraz frekwencja gatunków *Fusarium* w roku 2014



Rysunek 4. Zawartość biomasy (DNA) grzybów *Fusarium* w ziarnie pszenicy ozimej oraz frekwencja gatunków *Fusarium* w roku 2015



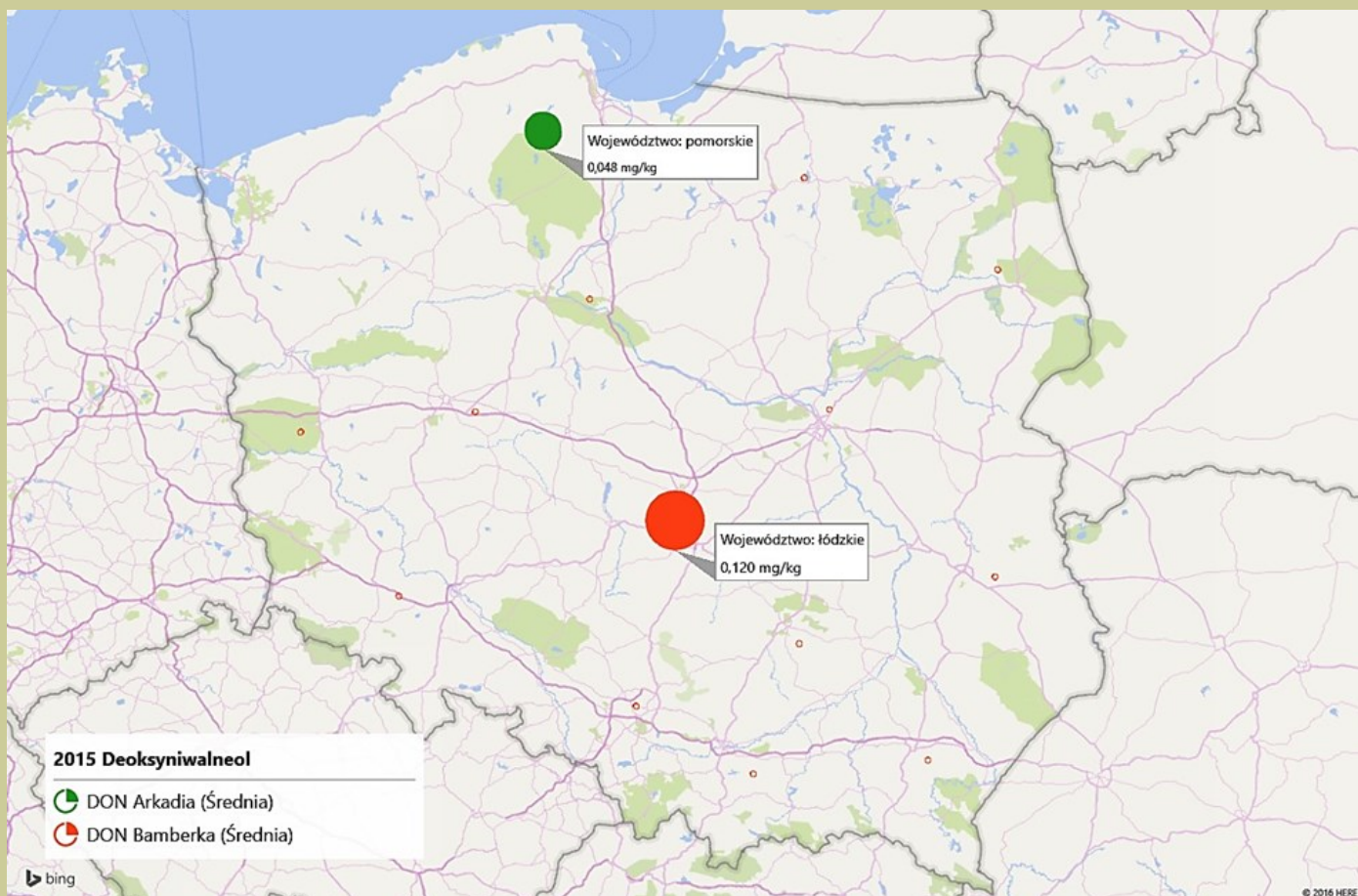
Rysunek 5. Zawartość deoksyniwaleolu (DON) w ziarnie pszenicy w roku 2014

Średnia zawartość DON w roku 2015 była bardzo niska (Rys. 6). Obecność DON w ilości powyżej limitu detekcji stwierdzono w próbie ziarna odmiany Arkadia z Lisewa (pomorskie) w ilości 0,190 mg/kg oraz w próbie ziarna odmiany Bamberka z Lućmierza (łódzkie) w ilości 0,240 mg/kg.

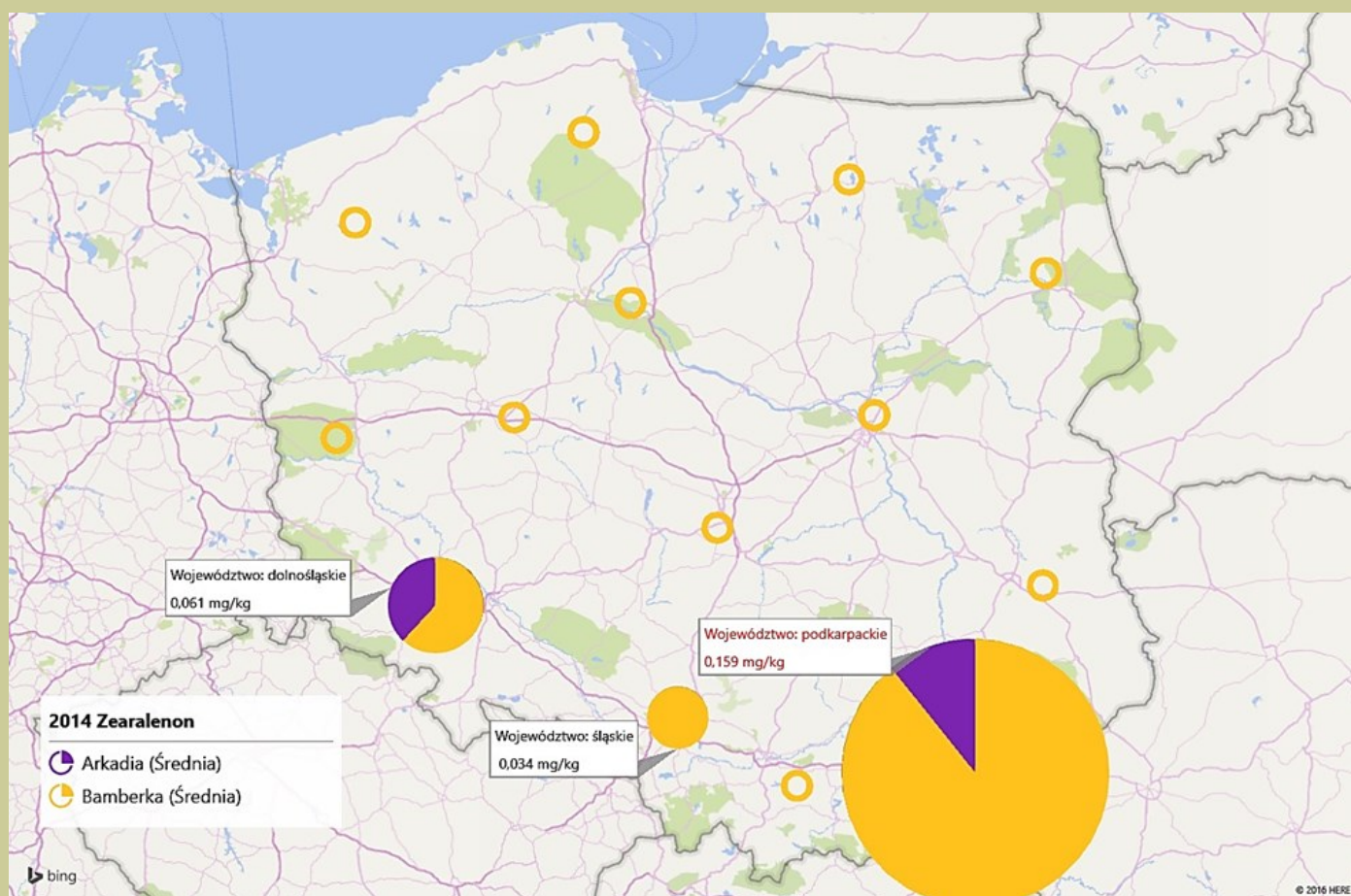
W roku 2014 zawartość zearalenonu powyżej granicy oznaczalności stwierdzono w 5 próbach, a w jednej przekroczony został limit UE (0,100 mg/kg) (Rys. 7). Była to próba ziarna odmiany Bamberka z województwa podkarpackiego zawierająca 0,286 mg/kg ZEN. Zearalenon wystąpił jeszcze w próbach z województw dolnośląskiego i śląskiego.

W roku 2015 zawartość ZEN był bardzo niska (Rys. 8). Obecność ZEN w ilości powyżej granicy oznaczalności stwierdzono w próbie ziarna odmiany Arkadia z małopolskiego w ilości 0,035 mg/kg oraz w próbie ziarna odmiany Bamberka z wielkopolskiego w ilości 0,031 mg/kg. W 5 innych próbach stwierdzono śladowe ilości ZEN, powyżej granicy oznaczalności (0,020 mg/kg).

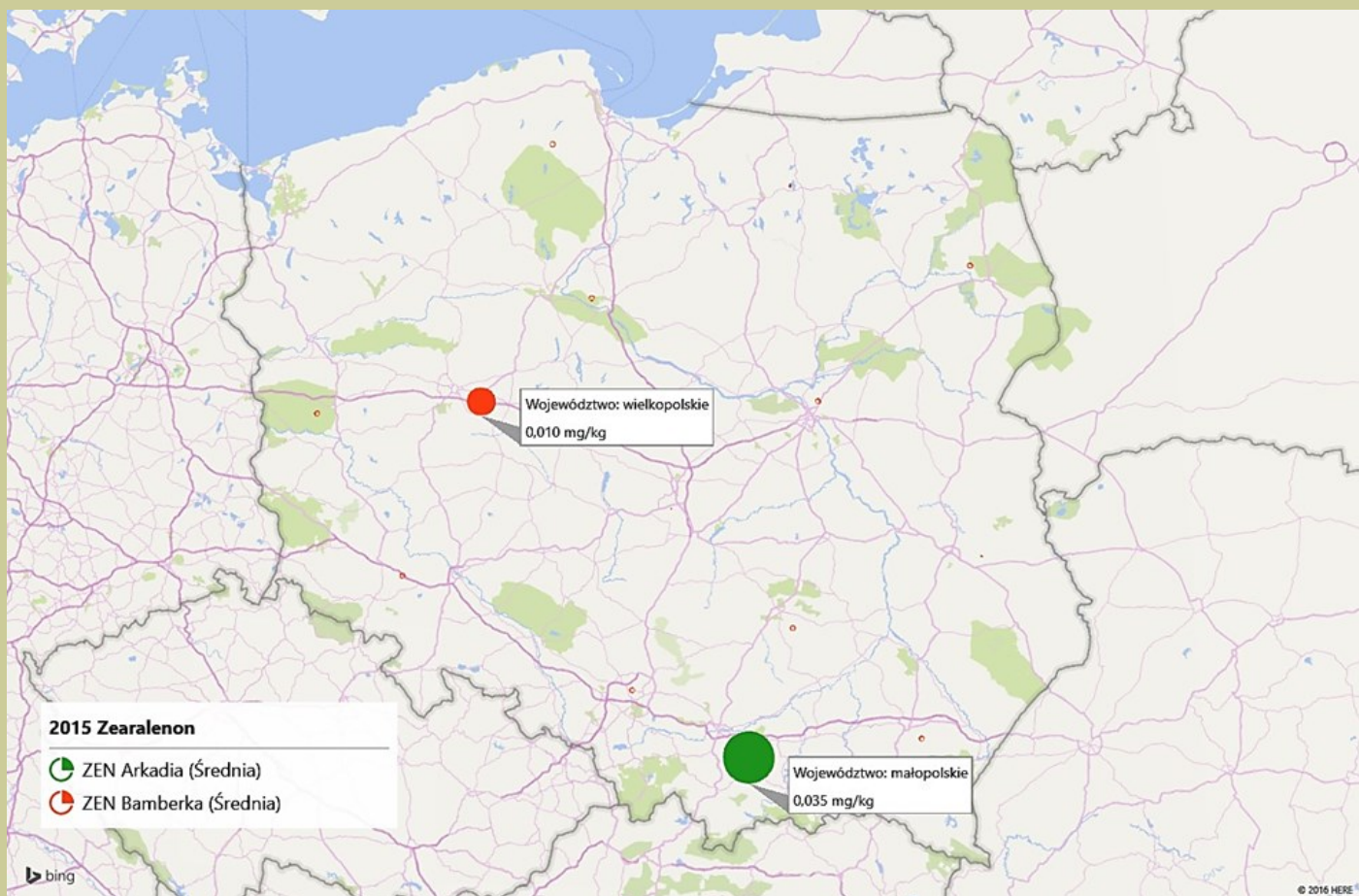
W roku 2014 wszystkie próby ziarna zawierały toksyny T-2 i HT-2 (Rys. 9). Dla obu odmian zawartość średnia była zbliżona (0,105 i 0,121 mg/kg, odpowiednio Arkadia i Bamberka), jednakże różniła się statystycznie istotnie. Najwyższa zawartość toksyny T-2 wyniosła 0,148 mg/kg. W 58% prób ziarna odmiany Arkadia i 81% prób ziarna odmiany Bamberka przekroczony został limit zawartości toksyn T-2 i HT-2 w zbożach i produktach zbożowych. Najwyższą zawartość tych toksyn stwierdzono w próbach z województw: kujawsko-pomorskiego, warmińsko-mazurskiego i pomorskiego (Polska północna). W roku 2015 również wszystkie próby zawierały toksyny T-2 i HT-2. Dla obu odmian zawartość średnia była zbliżona (0,115 i 0,119 mg/kg, odpowiednio Arkadia i Bamberka). Najwyższą zawartość toksyny T-2 wyniosła 0,372 mg/kg (odmiana Arkadia, próba z woj. świętokrzyskiego) oraz 0,334 mg/kg (odmiana Bamberka, próba z woj. dolnośląskiego). W 46% prób ziarna odmiany Arkadia i 46% prób ziarna odmiany Bamberka przekroczony został limit zawartości toksyn T-2 i HT-2 w zbożach i produktach zbożowych. Najwyższą zawartość tych toksyn stwierdzono w próbach z województwa świętokrzyskiego oraz z małopolskiego, lubuskiego, dolnośląskiego.



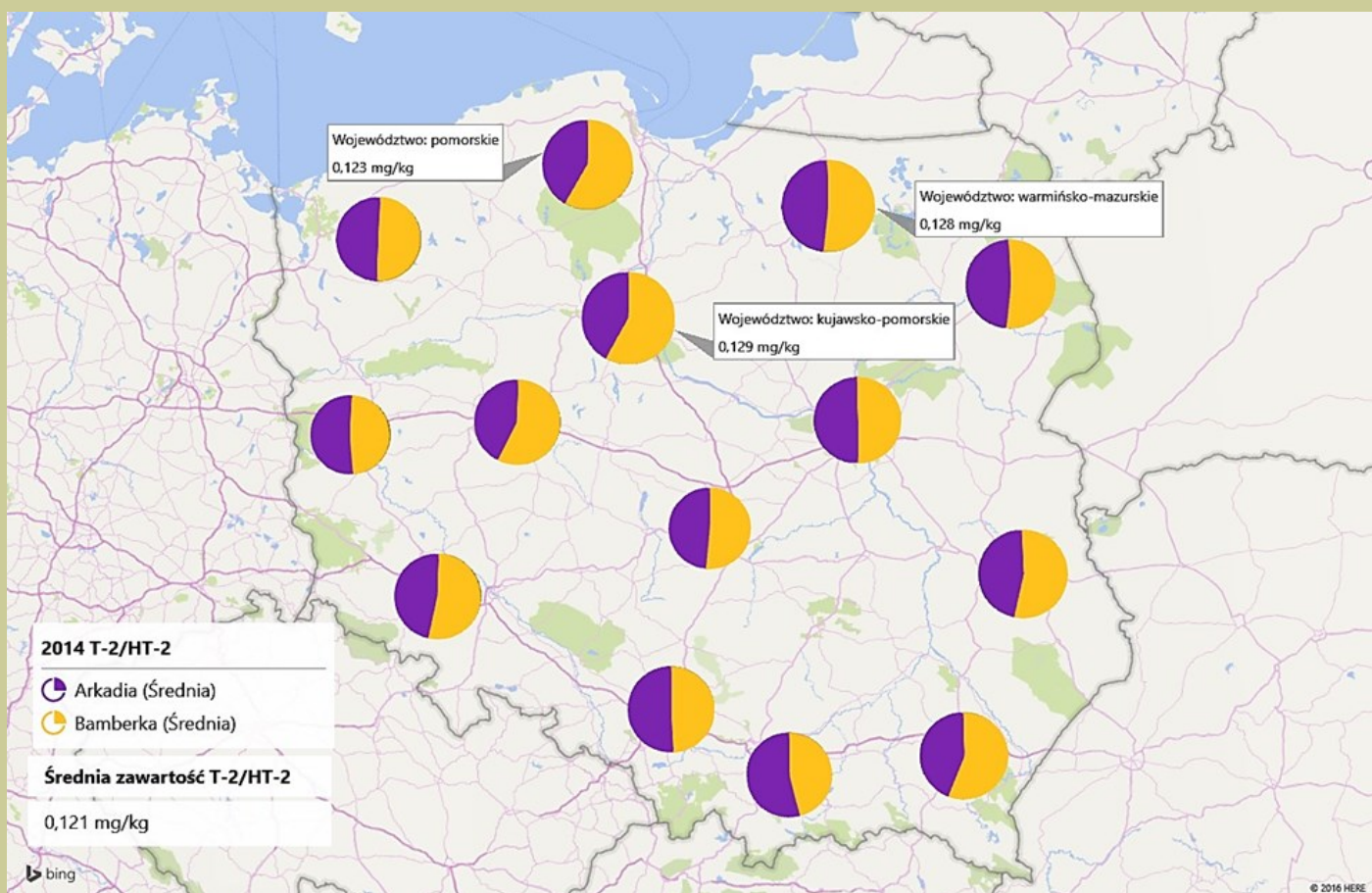
Rysunek 6. Zawartość deoksywalenolu (DON) w ziarnie pszenicy w roku 2015



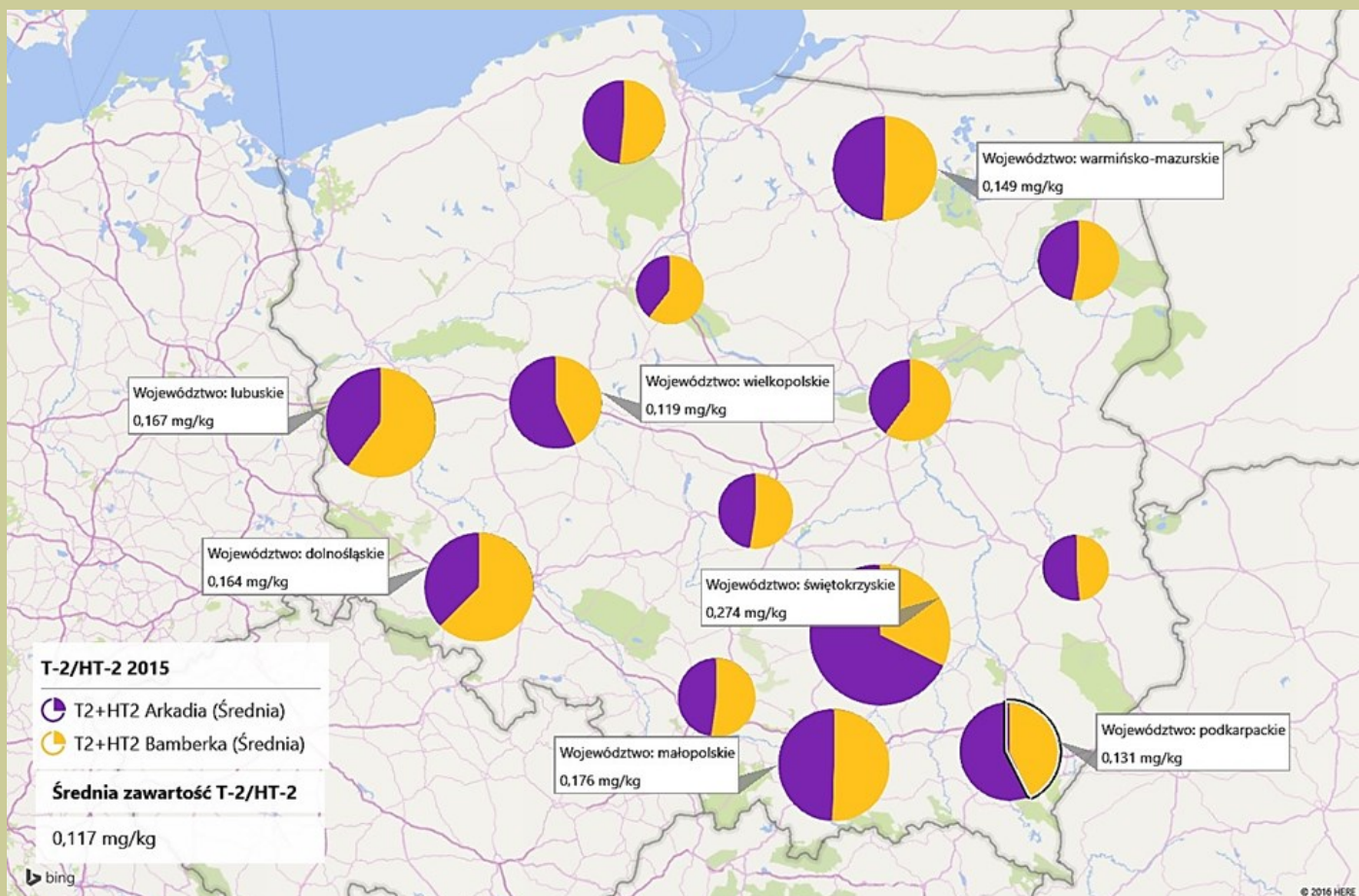
Rysunek 7. Zawartość zearalenonu w ziarnie pszenicy w roku 2014



Rysunek 8. Zawartość zearalenonu w ziarnie pszenicy w roku 2015



Rysunek 9. Zawartość toksyn T-2 i HT-2 w ziarnie pszenicy w roku 2014



Rysunek 10. Zawartość toksyn T-2 i HT-2 w ziarnie pszenicy w roku 2015

Wyniki uzyskane w roku 2014 pozwoliły na stwierdzenie dodatkowej zależności średniej temperatury w maju oraz sumy opadów w maju z zawartością DNA *F. graminearum* w ziarnie (Rys. 11). Istotna była również zależność od sumy opadów od maja do sierpnia oraz od sumy opadów w okresie kłoszenia i kwitnienia pszenicy. Dla pozostałych trzech gatunków (*F. culmorum*, *F. langsethiae*, *F. poae*) nie stwierdzono istotnych zależności z warunkami pogodowymi. W przypadku *F. langsethiae* zaobserwowano jedynie ujemne współczynniki korelacji z temperaturą i opadami co mogłoby wskazywać na tendencję do silniejszego rozwoju tego gatunku w warunkach niskiej temperatury przy niskich opadach. Dla *F. culmorum* współczynniki były ujemne dla zależności od temperatury. Może to wskazywać, że gatunek ten rozwija się lepiej w niższych temperaturach niż *F. graminearum*, mając jednocześnie zbliżone wymagania co do opadów.

Stwierdzono istotność współczynników korelacji średniej temperatury w maju i sierpniu 2014r. z zawartością DON. Dla ZEN współczynniki korelacji z temperaturą były dodatnie, lecz nieistotne statystycznie. W przypadku toksyn T-2/HT-2 współczynniki były również nieistotne statystycznie, jednakże przyjmowały wartości ujemne. Dla wszystkich toksyn współczynniki były ujemne dla sumy temperatur w lipcu. Wynikało to z wysokiej średniej temperatury w tym miesiącu.

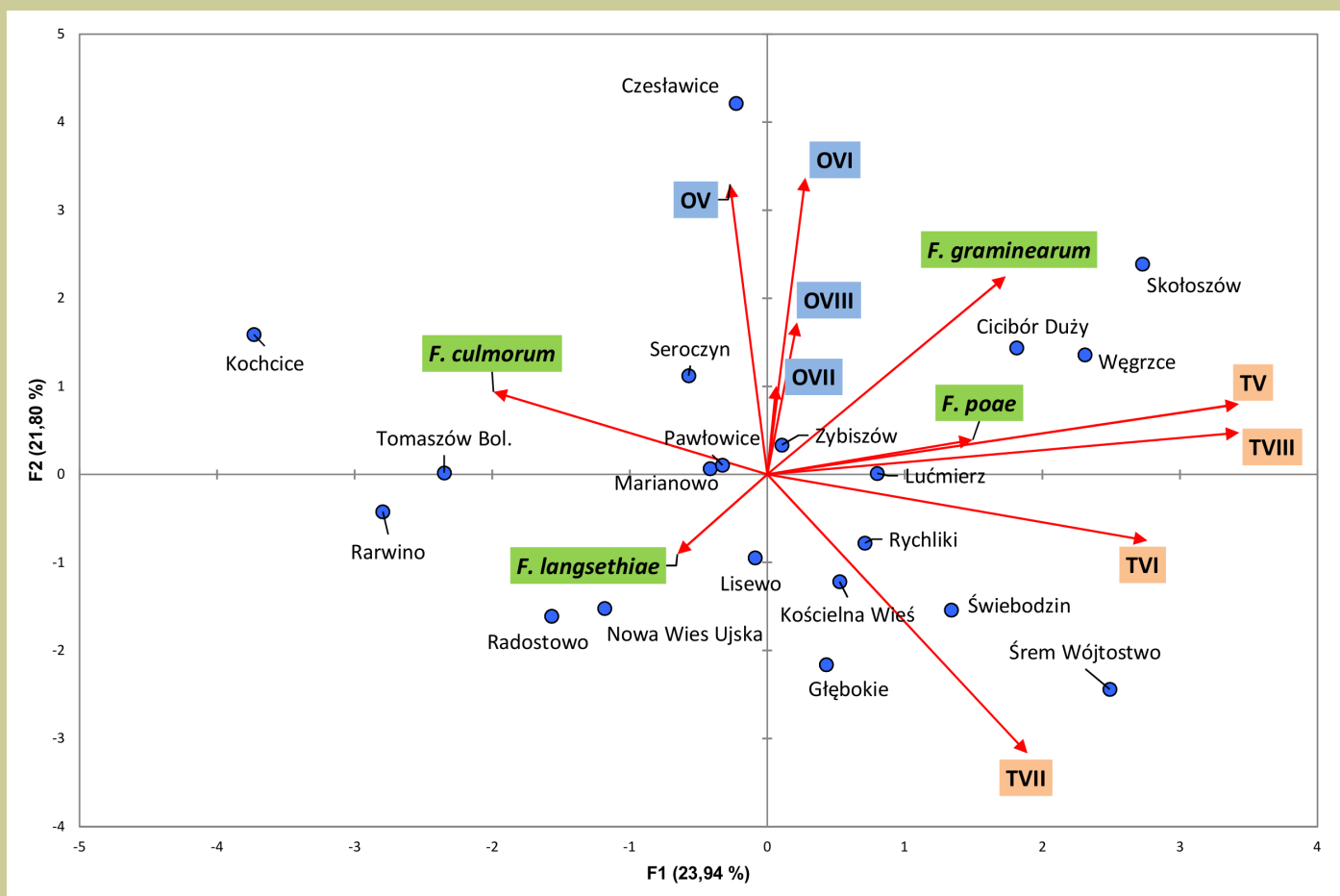
Sumy opadów w poszczególnych miesiącach korelowały dodatnio (z wyjątkiem lipca) z zawartością DON w ziarnie w 2014r. Najwyższe były współczynniki dla sum opadów w maju i czerwcu, czyli w okresie kwitnienia pszenicy. Dla ZEN i toksyn T-2/HT-2 współczynniki były w większości niskie i nieistotne statystycznie. Uzyskane wyniki pokazały, że na zawartość DON i ZEN w ziarnie dodatnio wpływały wysokie opady w połączeniu z wysokimi temperaturami. W przypadku toksyn T-2/HT-2 dodatni wpływ na ich zawartość w ziarnie miały opady, natomiast wysoka temperatura miała wpływ negatywny.

Dla wyników z roku 2015 obliczano jedynie korelacje z zawartością biomasy gatunków *F. graminearum*, *F. langsethiae*, *F. poae*. Pozostałe dwa wystąpiły w ilościach śladowych. Stwierdzono istotną dodatnią zależność średniej temperatury w czerwcu z zawartością DNA *F. poae*. Wysokie były również

współczynniki korelacji ze średnią temperaturą w maju i lipcu. Nie były jednakże istotne statystycznie. Dla pozostałych dwóch gatunków nie stwierdzono istotnych współczynników korelacji z warunkami pogodowymi. Dla *F. langsethiae*, podobnie jak w roku 2014, zaobserwowano ujemne współczynniki korelacji z temperaturą.

Ze względu na niskie zawartości toksyn DON i ZEN nie badano zależności ich akumulacji z warunkami pogodowymi. W przypadku toksyn T-2/HT-2 nie stwierdzono istotności korelacji z warunkami pogodowymi. Istniała jedynie dodatnia zależność pomiędzy opadami w czerwcu i lipcu z zawartością tych toksyn w ziarnie.

Zawartość biomasy *F. graminearum* korelowała istotnie z zawartością DON w ziarnie w obu latach oraz z zawartością ZEN w 2014r. Nie było korelacji zawartością ZEN w roku 2015 co wynikało ze śladowych ilości toksyny w ziarnie w tym roku. Zawartość toksyn T-2/HT-2 korelowała istotnie z zawartością DNA *F. langsethiae* w roku 2015. W roku 2014 współczynnik był dodatni, jednakże nieistotny. Zawartość DNA *F. poae* korelowała słabo z zawartością toksyn T-2/HT-2. Gatunek ten produkuje głównie inne toksyny i jedynie część izolatów może wytwarzać T-2 lub HT-2.



Rysunek 11. Układ współrzędnych dwóch składowych głównych dla 20 miejsc pochodzenia prób pszenicy ozimej w 2014. Składowe wyjaśniają 45,74% zmienności pomiędzy miejscowościami pod względem zawartości DNA *Fusarium* w ziarnie oraz warunków pogodowych w okresie maj – sierpień (T – temperatury, O – opady)

Podsumowanie:

- 1) W 2014 w ziarnie pszenicy dominował gatunek *F. graminearum*, głównie w południowo-wschodniej Polsce.
- 2) W 2015 w ziarnie pszenicy dominował gatunek *F. poae*, głównie w południowej i centralnej Polsce.
- 3) Stwierdzono średni poziom skażenia ziarna pszenicy deoksyniwalenolem i zearalenonem w roku 2014. W większości prób zawartość tych toksyn była poniżej zlecanych limitów.
- 4) Stwierdzono wysoki poziom skażenia ziarna pszenicy ze zbiorów w 2014r. toksynami T-2 i HT-2. W większości prób przekroczone były zlecane limity tych toksyn.
- 5) W roku 2014 najwyższe skażenie ziarna DON i ZEN wystąpiło w południowo-wschodniej Polsce, natomiast toksynami T-2/HT-2 w północnej Polsce
- 6) Stwierdzono bardzo niski poziom skażenia ziarna pszenicy z roku 2015 deoksyniwalenolem i zearalenonem. W większości prób zawartość tych toksyn była poniżej limitu detekcji.
- 7) Stwierdzono wysoki poziom skażenia ziarna pszenicy ze zbiorów w 2015r. toksynami T-2 i HT-2. W 45% prób przekroczone były zalecane limity tych toksyn, najwyższe skażenie T2/HT-2 wystąpiło w centralnej i południowej Polsce
- 8) Wysokie opady i wysoka temperatura sprzyjały obecności *F. graminearum* w ziarnie
- 9) Niskie opady i wysoka temperatura sprzyjały obecności *F. poae* w ziarnie
- 10) 10) Niska temperatura i średnie opady sprzyjały obecności *F. langsethiae* w ziarnie i tworzeniu toksyn T-2 i HT-2.
- 11) Wyniki uzyskane w latach 2014 i 2015 wskazują na bardzo silny wpływ warunków pogodowych na skład gatunkowy grzybów *Fusarium* porażających kłosa pszenicy oraz na ilość i rodzaj toksyn akumulowanych w ziarnie.

Autorzy:

Tomasz Góral¹, Piotr Ochodzki¹, Katarzyna Grelewska-Nowotko², Iga Grzeszczak¹

¹Zakład Fitopatologii, ²Zakład Biotechnologii i Cytogenetyki Roślin
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy
Radzików, 05-870 Błonie

Ulotka do pobrania ze strony Programu Wieloletniego 2015 – 2020 w IHAR-PIB:

<http://pw.ihar.edu.pl/obszary-dzialalnosci/obszar-tematyczny-3/zadanie-3-4/>