

**Wykorzystanie metody PCR do badania jakości ziarna pszenicy
ozimej uprawianej w systemach ekologicznym, integrowanym,
konwencjonalnym oraz monokulturze
w aspekcie fitopatologicznym**

ALEKSANDER ŁUKANOWSKI, CZESŁAW SADOWSKI

Akademia Techniczno-Rolnicza, Katedra Fitopatologii,
ul. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz

University of Technology and Agriculture, Faculty of Agriculture,
Department of Phytopathology, Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz, Poland
fitopato@atr.bydgoszcz.pl, luk-al@atr.bydgoszcz.pl

The use of PCR assay for quality testing of grain of winter wheat cultivated in organic,
integrated, conventional system and monoculture in phytopathological aspect

Otrzymano: 04.04.2005

Summary

The aim of experiments was to evaluate the occurrence of fungi on grain of winter wheat cv. Roma cultivated in four systems on the experimental fields owned by the Institute of Soil Science and Plant Cultivation. Among pathogenic species, fungi from genus *Fusarium* dominated. Their number was the lowest on grain harvested in organic system and the highest in integrated one. Saprotrophic species were represented mainly by *Alternaria alternata*, which occurred the most often in organic system. Determination of *F. avenaceum*, *F. culmorum* and *F. poae* with microscope was confirmed with a PCR assay. All isolates of *F. culmorum* and *F. poae* gave an amplification product of *Tri 5* gene coding the possibility of trichocene production, while none of isolates of *F. avenaceum*

Key words: winter wheat, grain quality, fungi, PCR, *Fusarium* spp.

WSTĘP

Parametry jakościowe ziarna dostarczają cennych informacji na temat przydatności do siewu, a zwłaszcza jego zdolności kiełkowania, szybkości wschodów i możliwości

uzyskania dobrego plonu. Z tego względu, jakość ziarna jest jednym z głównych wyróżników uzyskiwanej ceny, a także stanowi ważny instrument decyzyjny co do dalszych działań podejmowanych przez producentów, w tym także przechowywania i zbytu (L a r i n d e, 2004).

Powszechnie uważa się, że jakość zebranego ziarna jest bezpośrednim odzwierciedleniem warunków pogodowych w czasie sezonu wegetacyjnego. Nie bez wpływu pozostaje także sposób uprawy, zabiegi pielęgnacyjne, a wśród nich zwłaszcza skuteczność zastosowanych środków ochrony roślin, co jest szczególnie ważne w produkcji ekologicznej. Wysokie parametry jakościowe materiału siewnego mają bowiem w tym przypadku kluczowe znaczenie wobec ustawowego nakazu używania w rolnictwie ekologicznym materiału rozmnożeniowego pochodzącego wyłącznie z upraw ekologicznych i bezwzględnie zakazu chemicznego zaprawiania.

Biorąc powyższe pod uwagę można stwierdzić z całą pewnością, że rolnicy prowadzący gospodarstwa ekologiczne często stają wobec problemu występowania chorób grzybowych roślin, na co wskazują dotychczasowe wyniki badań podejmujących to zagadnienie, jak również próby opracowania akceptowanych w systemie ekologicznym metod zaprawiania materiału siewnego (Ł u k a n o w s k i, 2003; B a t u r o i i n, 2004, S a d o w s k i i Ł u k a n o w s k i 2005 w druku).

MATERIAŁ I METODY

Przedmiotem badań była pszenica ozima odmiany Roma uprawiana w latach 1999–2002 na polach doświadczalnych Instytutu Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa. Celem było określenie wpływu systemu uprawy na fitopatologiczny aspekt jakości zebranego ziarna.

W każdym roku badań wykonywano analizę mikologiczną 400 (4x100) ziarniaków na pożywce PDA zakwaszonej do pH 5.5 kwasem cytrynowym. Ziarniaki płukano przez 45 minut pod bieżącą wodą, a następnie przepłukiwano trzykrotnie w wodzie sterylnej. Tak przygotowane ziarniaki umieszczano na płytkach z pożywką i inkubowano w termostacie w temperaturze 23°C, a po upływie 7–10 dni przenoszono na skosy agarowe i oznaczano według kluczy mikologicznych (G i l m a n, 1957; K w a ś n a i i n. 1991).

Przeprowadzono także analizę molekularną izolowanych grzybów rodzaju *Fusarium* metodą PCR (Polymerase Chain Reaction). Potwierdzano tą techniką prawidłowość oznaczenia przynależności gatunkowej uzyskanych izolatów *Fusarium* spp. oraz określano potencjalną zdolność poszczególnych gatunków tych grzybów do produkcji mikotoksyn z grupy trichotecenów.

W celu potwierdzenia przynależności gatunkowej *Fusarium avenaceum*, *F. culmorum* (S c h i l l i n g i i n., 1996) i *F. poae* (P a r r y i N i c h o l s o n, 1996) przeprowadzono szereg reakcji z użyciem specyficznych starterów typu SCAR. Potencjalną zdolność do

produkcji trochotecenów określano na podstawie obecności w genomie badanych izolatów genu *Tri 5* kodującego syntazę trichodieniu, który jest enzymem katalizującym izomeryzację i cyklizację fosforanu farnezyli do trichodieniu – pierwszego etapu w szlaku biosyntezy trichitecenów. Oczekiwanym produktem pozytywnej reakcji był fragment DNA o długości 260 par zasad.

WYNIKI

Wyniki analiz mikologicznych wykazały, że skład gatunkowy izolowanych grzybów był wprawdzie podobny we wszystkich badanych próbach, lecz stwierdzono wyraźne różnice, które dotyczyły ilościowego udziału poszczególnych gatunków. Gatunki patogeniczne były najliczniej reprezentowane przez grzyby rodzaju *Fusarium*. Stwierdzono wyraźną zależność pomiędzy występowaniem tych grzybów a systemem uprawy. Najmniej grzybów izolowano z ziarniaków pochodzących z systemu ekologicznego (tab. 1). W systemie tym również obserwowano najmniejsze ich zróżnicowanie gatunkowe. Najliczniej grzyby rodzaju *Fusarium* reprezentowane były na ziarnie zebranych w systemie integrowanym (tab. 2), natomiast w dwóch pozostałych systemach, konwencjonalnym (tab. 3) oraz monokulturze (tab. 4), było ich wyraźnie mniej (odpowiednio 37,75% i 34,75%). Obserwowano wyraźną zależność między wielkością zasiedlenia ziarna przez grzyby tego rodzaju a ilością opadów w lipcu (tab. 5). W latach 2000 i 2001, charakteryzujących się wysokimi opadami w tym miesiącu (odpowiednio 173,9 i 139,5 mm), zasiedlenie ziarna było najwyższe we wszystkich badanych systemach. Warto też zwrócić uwagę na wzajemne zależności między dwoma gatunkami – *Fusarium avenaceum* i *Fusarium poae*. W warunkach wysokiej temperatury powietrza, utrzymującej się przez dłuższy czas po okresie kwitnienia i infekcji zbóż przez zarodniki konidialne *Fusarium* spp., wśród gatunków izolowanych z zebranego ziarna wyraźnie spada zasiedlenie przez *F. avenaceum* na korzyść *F. poae*.

Tabela 1

Występowanie grzybów na ziarnie pszenicy ozimej uprawianej w systemie ekologicznym w latach 1999–2002 w Osinach k/Puławy (%)

Table 1

Occurrence of fungi on grain of winter wheat cultivated in organic system in 1999–2002 in Osiny near Puławy (%)

Grzyb/Fungus	1999	2000	2001	2002	1999–2002
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	94.0	92.0	82.0	68.0	82.5
<i>Fusarium avenaceum</i> (Corda ex Fr.) Sacc.	14.0	1.0	11.0	3.0	7.25
<i>Fusarium graminearum</i> Schwabe	12.0	0.0	1.0	0.0	3.25
<i>Fusarium poae</i> (Peck.) Wollenweber	2.0	21.0	9.0	3.0	8.75
<i>Fusarium tricinctum</i> Corda	1.0	12.0	3.0	0.0	4.0
<i>Fusarium</i> razem/ Total <i>Fusarium</i>	29.0	34.0	24.0	6.0	23.25
<i>Epicoccum nigrum</i> Link	3.0	7.0	35.0	12.0	14.25
<i>Penicillium</i> spp.	2.0	0.0	13.0	0.0	3.75
<i>Mucor</i> spp.	0.0	0.0	1.0	0.0	0.25
<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem	4.0	0.0	5.0	0.0	2.25
<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link ex S.F. Gray	2.0	0.0	1.0	0.0	0.75
<i>Botrytis cinerea</i> Pers. ex Fr.	2.0	2.0	4.0	1.0	2.25
<i>Acremoniella fusca</i> Kunze	5.0	0.0	25.0	0.0	7.5
<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Sacc in Sorok) Shoemaker	0.0	0.0	3.0	1.0	1.0
<i>Drechslera</i> sp.	0.0	1.0	0.0	0.0	0.25
<i>Gonatobotrys simplex</i> Corda	1.0	5.0	3.0	0.0	2.25
<i>Trichothecium roseum</i> Link	2.0	0.0	0.0	0.0	0.5
grzyby niezarodnikujące	0.0	0.0	2.0	10.0	3.0

Tabela 2.

Występowanie grzybów na ziarnie pszenicy ozimej uprawianej w systemie integrowanym w latach 1999–2002 w Osinach k/Puławy (%)

Table 2.

Occurrence of fungi on grain of winter wheat cultivated in integrated system in 1999–2002 in Osiny near Puławy (%)

Grzyb/Fungus	1999	2000	2001	2002	1999–2002
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	81.0	89.0	37.0	54.0	65.25
<i>Fusarium avenaceum</i> (Corda ex Fr.) Sacc.	29.0	1.0	16.0	2.0	12.0
<i>Fusarium cerealis</i> (Cooke) Sacc.	0.0	0.0	1.0	0.0	0.25
<i>Fusarium culmorum</i> (W. Gams Sm.) Sacc	0.0	0.0	2.0	0.0	0.5
<i>Fusarium graminearum</i> Schwabe	5.0	1.0	6.0	0.0	3.0
<i>Fusarium poae</i> Wollenweber	2.0	32.0	31.0	10.0	18.75
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.	2.0	0.0	0.0	0.0	0.5
<i>Fusarium tricinctum</i> Corda	0.0	20.0	32.0	2.0	13.5
<i>Fusarium razem/</i> Total <i>Fusarium</i>	38.0	54.0	88.0	14.0	48.5
<i>Epicoccum nigrum</i> Link	2.0	25.0	29.0	34.0	22.5
<i>Penicillium</i> spp.	0.0	0.0	0.0	3.0	0.75
<i>Mucor</i> spp.	7.0	0.0	3.0	0.0	2.5
<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link ex S.F. Gray	8.0	5.0	0.0	0.0	3.25
<i>Botrytis cinerea</i> Pers. ex Fr.	1.0	2.0	2.0	0.0	1.25
<i>Acremoniella fusca</i> Kunze	1.0	0.0	37.0	0.0	9.5
<i>Acremonium</i> spp.	1.0	0.0	0.0	0.0	0.25
<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Sacc in Sorok) Shoemaker	0.0	2.0	0.0	2.0	1.0
<i>Gonatobotrys simplex</i> Corda	0.0	0.0	2.0	0.0	0.5
<i>Trichoderma koningii</i> Oudemans	0.0	0.0	1.0	0.0	0.25
grzyby niezarodnikujące	2.0	0.0	2.0	8.0	3.0

Tabela 3.

Występowanie grzybów na ziarnie pszenicy ozimej uprawianej w systemie konwencjonalnym w latach 1999–2002 w Osinach k/Puław (%)

Table 3.

Occurrence of fungi on grain of winter wheat cultivated in conventional system in 1999–2002 in Osiny near Puławy (%)

Grzyb/Fungus	1999	2000	2001	2002	1999–2002
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	65.0	89.0	48.0	72.0	68.5
<i>Fusarium avenaceum</i> (Corda ex Fr.) Sacc.	25.0	1.0	12.0	2.0	10.0
<i>Fusarium culmorum</i> (W. Gams Sm.) Sacc	0.0	0.0	14.0	0.0	3.5
<i>Fusarium graminearum</i> Schwabe	3.0	0.0	9.0	0.0	3.0
<i>Fusarium poae</i> Wollenweber	0.0	22.0	10.0	6.0	9.5
<i>Fusarium sambucinum</i> Fuckel	0.0	1.0	0.0	0.0	0.25
<i>Fusarium sporotrichoides</i> Sherb.	0.0	0.0	0.0	1.0	0.25
<i>Fusarium tricinctum</i> Corda	0.0	14.0	30.0	1.0	11.25
<i>Fusarium</i> razem/ Total <i>Fusarium</i>	28.0	38.0	75.0	10.0	37.75
<i>Epicoccum nigrum</i> Link	25.0	32.0	28.0	28.0	28.25
<i>Penicillium</i> spp.	2.0	0.0	0.0	0.0	0.5
<i>Rhizopus nigricans</i> Ehrenberg	1.0	0.0	1.0	0.0	0.5
<i>Mucor</i> spp.	8.0	1.0	2.0	0.0	2.75
<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem	0.0	0.0	11.0	0.0	2.75
<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link ex S.F. Gray	11.0	0.0	0.0	0.0	2.75
<i>Botrytis cinerea</i> Pers. ex Fr.	1.0	3.0	0.0	1.0	1.25
<i>Acremoniella fusca</i> Kunze	0.0	0.0	23.0	0.0	5.75
<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Sacc in Sorok) Shoemaker	0.0	0.0	1.0	1.0	0.5
<i>Gonatobotrys simplex</i> Corda	0.0	5.0	1.0	0.0	1.5
<i>Trichoderma koningii</i> Oudemans	0.0	5.0	0.0	0.0	1.25
<i>Trichoderma viride</i> Pers. ex S.F. Gray	0.0	0.0	1.0	0.0	0.25
grzyby niezarodnikujące	7.0	0.0	6.0	2.0	3.75

Tabela 4.

Występowanie grzybów na ziarnie pszenicy ozimej uprawianej w monokulturze w latach 1999–2002 w Osinach k/Puławy (%)

Table 4.

Occurrence of fungi on grain of winter wheat cultivated in monoculture in 1999–2002 in Osiny near Puławy (%)

Grzyb/Fungus	1999	2000	2001	2002	1999–2002
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	68.0	86.0	67.0	61.0	70.5
<i>Fusarium avenaceum</i> (Corda ex Fr.) Sacc.	35.0	2.0	16.0	3.0	14.0
<i>Fusarium cerealis</i> (Cooke) Sacc.	0.0	0.0	1.0	0.0	0.25
<i>Fusarium culmorum</i> (W. Gams Sm.) Sacc	0.0	0.0	1.0	0.0	0.25
<i>Fusarium graminearum</i> Schwabe	1.0	0.0	7.0	0.0	2.0
<i>Fusarium poae</i> Wollenweber	4.0	27.0	18.0	7.0	14.0
<i>Fusarium tricinctum</i> Corda	0.0	17.0	0.0	0.0	4.25
<i>Fusarium razem/</i> Total <i>Fusarium</i>	40.0	46.0	43.0	10.0	34.75
<i>Epicoccum nigrum</i> Link	17.0	27.0	55.0	31.0	32.5
<i>Mucor</i> spp.	6.0	0.0	4.0	0.0	2.5
<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem	0.0	0.0	2.0	0.0	0.5
<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link ex S.F. Gray	10.0	0.0	0.0	0.0	2.5
<i>Botrytis cinerea</i> Pers. ex Fr.	0.0	2.0	0.0	0.0	0.5
<i>Nigrospora sphaerica</i> (Saccardo) Mason	0.0	4.0	0.0	2.0	1.5
<i>Trichoderma koningii</i> Oudemans	0.0	0.0	2.0	0.0	0.5
<i>Trichoderma viride</i> Pers. ex S.F. Gray	0.0	0.0	1.0	0.0	0.25
grzyby niezarodnikujące	5.0	0.0	5.0	2.0	3.0

Tabela 5.
Warunki meteorologiczne w okresie prowadzenia badań, Puławy 1999–2002

Table 5.
Weather conditions during experiments, Puławy 1999–2002

Miesiąc Month	Temperatura/Temperature				Opad/Rainfall			
	1998/1999	1999/2000	2000/2001	2001/2002	1998/1999	1999/2000	2000/2001	2001/2002
IX	13.1	15.0	11.7	12.4	36.3	28.7	60.8	122.6
X	7.6	8.1	11.1	10.8	47.5	39.2	12.4	30.2
XI	-1.7	1.5	6.6	2.2	31.6	42.2	32.7	33.4
XII	-3.0	0.3	1.5	-5.2	19.9	20.7	44.6	12.0
I	0.2	-1.8	-0.4	-1.1	15.3	22.0	32.6	26.3
II	-1.3	2.2	-0.7	3.5	41.2	31.8	24.4	47.3
III	4.4	3.3	2.7	4.6	17.0	64.8	41.9	39.7
IV	9.8	11.9	8.8	8.9	96.6	48.7	88.9	13.0
V	12.2	15.1	14.9	17.6	38.4	59.2	15.3	10.1
VI	18.5	17.4	15.5	18.0	147.7	29.7	58.4	88.4
VII	20.4	17.0	21.0	21.6	51.2	173.9	139.5	78.8
VIII	17.8	18.0	19.3	20.5	45.1	62.4	84.4	26.3

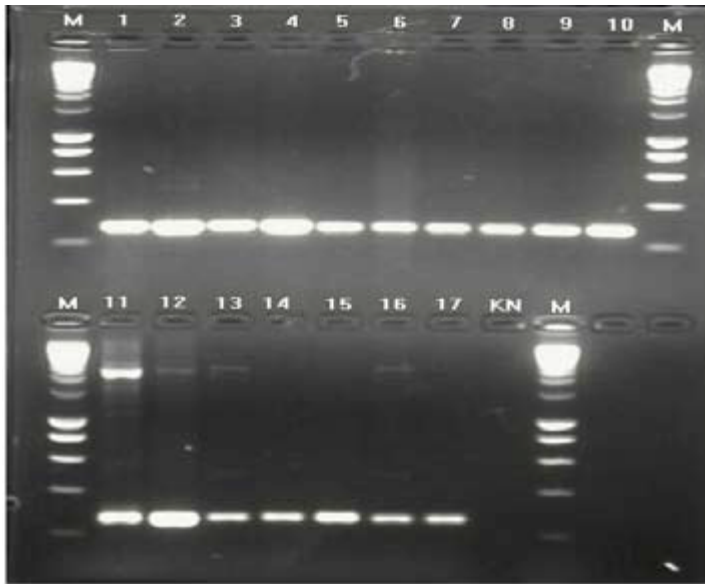
Wśród innych izolowanych gatunków zwraca uwagę powszechna obecność *Epicoccum nigrum*, który średnio we wszystkich latach badań zasiedlał w zależności od systemu, od 14,25% (system ekologiczny) aż do 35% (monokultura) wszystkich badanych ziarniaków.

Spośród pozostałych gatunków w każdym systemie zdecydowanie dominował *Alternaria alternata*. Najliczniej występował on na ziarnie z systemu ekologicznego (82,5%), a w trzech pozostałych systemach zasiedlenie ziarna było wyraźnie niższe i na stosunkowo zbliżonym poziomie (odpowiednio 65,25%, 68,5% i 70,5% w integrowanym, konwencjonalnym i monokulturze).

Z ziarna pochodzącego z systemu ekologicznego i konwencjonalnego izolowano również gatunek *Aspergillus niger* (2,25% i 2,75%), który może mieć duże znaczenie podczas dalszego przechowywania uszkodzonego mechanicznie ziarna, zwłaszcza w warunkach zbyt wysokiej wilgotności ze względu na jego potencjalną zdolność do produkcji jednego z najbardziej toksycznych metabolitów wtórnych – ochratoksyny A.

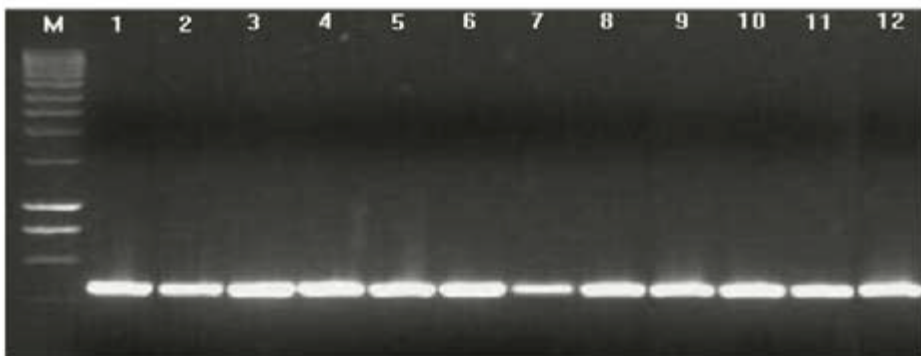
Potwierdzono poprawność oznaczenia trzech gatunków *Fusarium*: *F. avenaceum*, *F. culmorum* oraz *F. poae* przy użyciu metody PCR. Oznaczone metodami standardowymi izolaty dały w tej reakcji oczekiwane produkty amplifikacji o charakterystycznej długości: odpowiednio 272 pz, 472 pz oraz 220 pz (ryc. 1, ryc. 2, ryc. 3).

Wszystkie uzyskane izolaty *F. culmorum* i *F. poae* posiadały w swym genomie gen *Tri 5*, warunkujący ich potencjalną zdolność do produkcji mikotoksyn z grupy trichotecenów (ryc. 4 i ryc. 5). Tego genu nie posiadał żaden z badanych izolatów *F. avenaceum*.



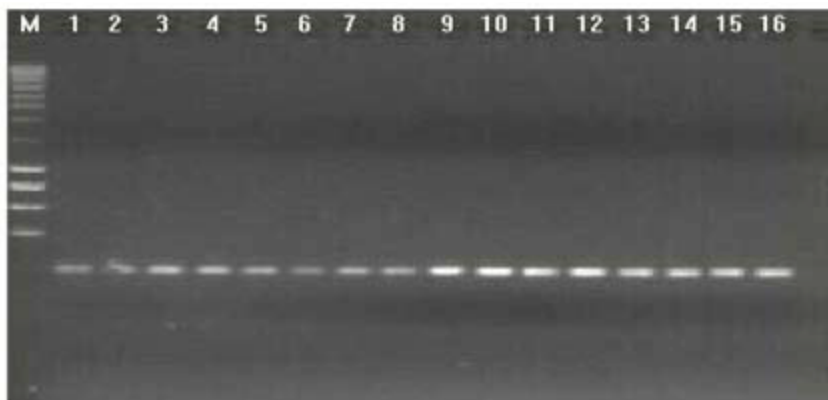
Ryc. 1 Potwierdzenie przynależności gatunkowej *Fusarium avanaeum* metodą PCR

Fig. 1. Confirmation of *Fusarium avanaeum* with a PCR assay

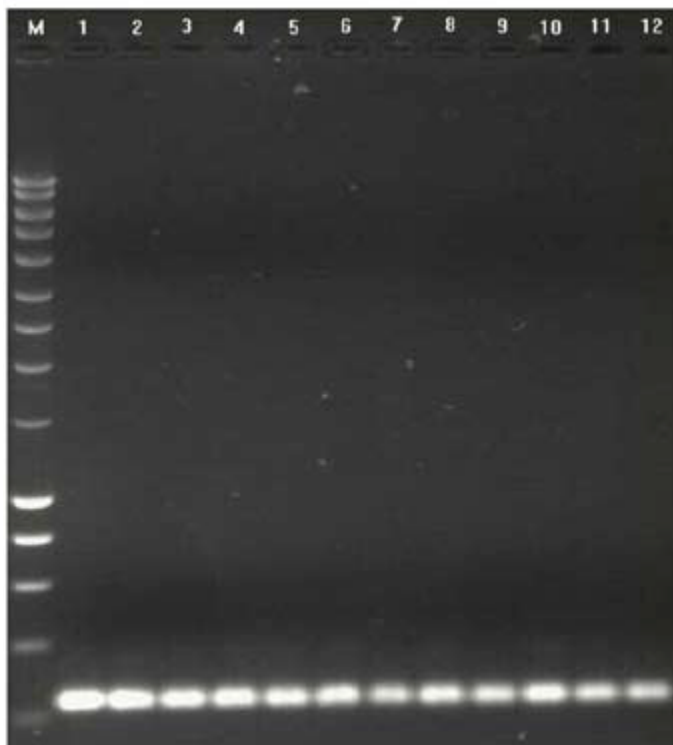


Ryc. 2 Potwierdzenie przynależności gatunkowej *Fusarium culmorum* metodą PCR

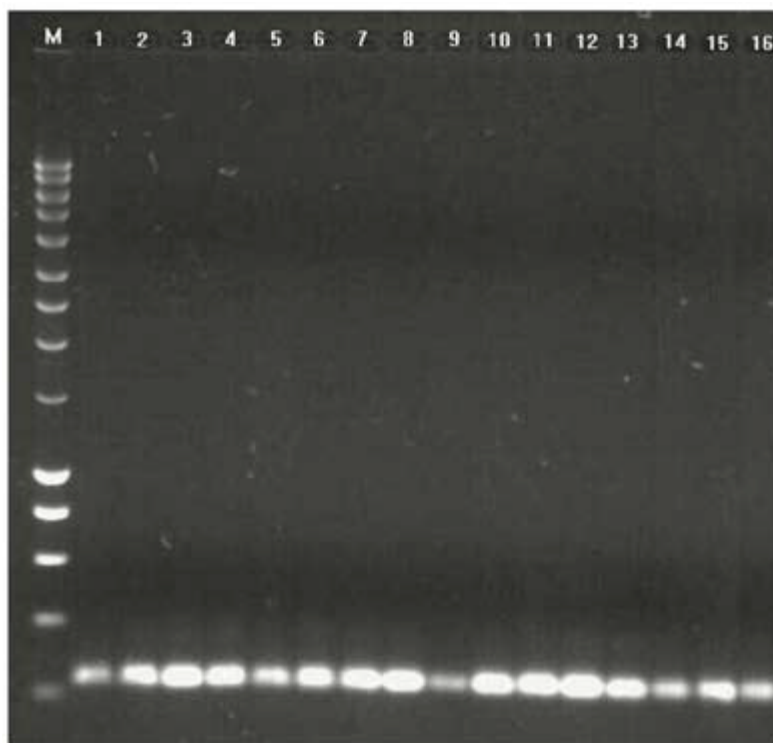
Fig. 2. Confirmation of *Fusarium culmorum* with a PCR assay



Ryc. 3 Potwierdzenie przynależności gatunkowej *Fusarium poae* metodą PCR
Fig. 3. Confirmation of *Fusarium poae* with a PCR assay



Rys. 4. Test PCR na obecność genu *Tri 5* w izolatach *Fusarium culmorum*
Fig. 4. PCR assay for the presence of *Tri 5* gene in isolates of *Fusarium culmorum*



Rys. 5. Test PCR na obecność genu *Tri 5* w izolatach *Fusarium poae*

Fig. 5. PCR assay for the presence of *Tri 5* gene in isolates of *Fusarium poae*

DYSKUSJA

Wśródpatogenicznych gatunków grzybów izolowanych każdego roku, dominowały grzyby rodzaju *Fusarium*. Wielu autorów zwraca uwagę na ich powszechne występowanie (Wakuliński i Chełkowski, 1993; Baturó-Czajkowska i in. 1999; Łukanowski i in. 2002; Łukanowski i Sadowski, 2002) i duże znaczenie ze względu na to, że mając zdolność do infekcji roślin w czasie kwitnienia i późniejszego zasiedlania zebranego ziarna mogą powodować choroby siewek i uszkodzenia korzeni, a także podstaw źdźbła starszych roślin w czasie całego okresu wegetacji (Lemańczyk i Sadowski, 2002; Lemańczyk, 2003).

Obecność *Fusarium* spp. w pszenicy może mieć szkodliwy wpływ na właściwości technologiczne ziarna. Bechtel i in. (1985), na przykład, stwierdzili, że *F. graminearum* miał zdolność niszczenia ziaren skrobi, białek zapasowych i ścian komórkowych porażonych ziarniaków. Dexter i in. (1997) wykazali, że mąka z próbek kanadyjskiej pszenicy czerwonoziarnistej z partii zawierającej uszkodzone

przez *Fusarium* ziarniaki charakteryzowała się niedostateczną jakością wypieku. Nightingale i in. (1999) sugerowali, że *F. graminearum* i *F. avenaceum* mają zdolność produkcji enzymów proteolitycznych hydrolizujących białka endospermu podczas mieszania zaczynu ciasta i fermentacji, co powoduje jego gorszą jakość i zmniejsza objętość chleba. W przypadku jęczmienia infekcja ziarniaków przez *Fusarium* spp. obniża ilość i jakość słodu, jak również prowadzi do niekontrolowanego spieniania piwa podczas procesu słodowania (Schwarz i in., 2002).

Powszechne zasiedlenie ziarna przez grzyby rodzaju *Fusarium*, co wykazano w niniejszej pracy jest niezwykle istotne z żywieniowego punktu widzenia, ponieważ grzyby te są powszechnie znane jako producenci mikotoksyn, których obecność w ziarnie lub produktach pochodzących z jego przetworzenia stwarza zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt (D'Mello i in. 1999). Może to być szczególnie istotne dla producentów gospodarujących w systemie ekologicznym, gdzie zabronione jest stosowanie chemicznych środków ochrony roślin, co w niektórych przypadkach (zwłaszcza przy niekorzystnym układzie warunków atmosferycznych, szczególnie częstych opadów od początku kwitnienia zbóż aż do końca wegetacji) może prowadzić do zwiększonego stężenia mikotoksyn w roślinach i produktach z nich pochodzących. Eltun (1996) donosił o wyższym stężeniu deoxynivalenolu i niwalenolu w próbkach ziarna wyprodukowanego w systemie ekologicznym w porównaniu z systemem konwencjonalnym. Wykluczenie użycia pestycydów nie musi oznaczać, że produkty nie zawierają niepożądanych substancji. Istnieją doniesienia o wyższej zawartości fumonizyny i patuliny w produktach ekologicznych (Lovejoy, 1994; Kirchmann i Thorvaldsson, 2000), a niemożność użycia skutecznych fungicydów w gospodarstwach ekologicznych doprowadziła do tego, że stały się one swoistymi „wylęgarniami” chorób (Zwankhuizen i in. 1998, Eltun 1996).

W warunkach prowadzenia niniejszych badań nie potwierdzono jednak przytoczonych wyżej opinii w odniesieniu do większego zagrożenia występowaniem grzybów rodzaju *Fusarium* i tworzonymi przez nie mikotoksynami w ziarnie z roślin uprawianych w tym systemie. Zasiedlenie ziarna przez te grzyby było wyraźnie mniejsze w stosunku do pozostałych systemów. Wyniki te są potwierdzeniem wcześniejszych badań dotyczących tego zagadnienia, również w przypadku jęczmienia jarego (Łukanowski i Sadowski, 2002; Baturo i in., 2004; Baturo, 2005 w druku). Poza tym należy zaznaczyć, że nie zawsze wysokie nasilenie objawów fuzariozy na kłosach ma odzwierciedlenie w silnym zasiedleniu ziarna pszenicy przez *Fusarium* spp., jak również wysokiej zawartości mikotoksyn (Sadowski i in., 2002). Może to być spowodowane późnym terminem infekcji, występowaniem izolatów poszczególnych gatunków tworzących małe ilości mikotoksyn lub niesprzyjającymi warunkami siedliskowymi. Należy jednak zaznaczyć, że wyniki prac nad tym zagadnieniem są w dużym stopniu uzależnione od rejonu uprawy zbóż. W przypadku kilkuletnich badań porównawczych prowadzonych w dwóch typach gospodarstw (ekologicznym i konwencjonalnym) w województwie kujawsko-pomorskim stwierdzono, że ziarno pszenicy i jęczmienia pochodzące z uprawy ekologicznej było w wyższym stopniu zasiedlone przez grzyby rodzaju *Fusarium* (Łukanowski i in., 2002).

S a d o w s k i i in. (2002) donosili także o problemie ochrony chemicznej przed fu-zariozą kłosów. Zastosowanie fungicydów przeciwko chorobom występującym w ostat-nich fazach rozwojowych pszenicy na liściu flagowym nie obniżało wyraźnie zasiedle-nia uzyskanego ziarna przez *Fusarium* spp., a niekiedy nawet wpływało na zwiększenie ich liczebności. Sytuację taką tłumaczyć można prawdopodobnie ułatwionym rozwojem tych grzybów w powstałej niszy ekologicznej na kłosach po zastosowaniu chemiczne-go zwalczania innych chorobotwórczych grzybów, zwłaszcza *Septoria*. Nie wszystkie doniesienia potwierdzają jednak tak duże potencjalne zagrożenie ze strony produktów ekologicznych. W badaniach S c h o l l e n b e r g e r i in. (2005) dotyczących zawar-tości różnych mikotoksyn z grupy trichotecenów w 101 próbach chleba wypieczonego z mąki pochodzącej z przemiału ziarna zbóż uprawianych ekologicznie i konwencjonal-nie wykazano, że mniejsze ich stężenie występowało w pieczywie z mąki wyprodukowa-nej ze zbóż uprawianych w systemie ekologicznym. Należy jednocześnie zaznaczyć, że w żadnym analizowanym przypadku, bez względu na system uprawy zbóż nie stwierdzono przekroczenia maksymalnej tolerowanej dziennej dawki deoksyniwalenolu wynoszącej $1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ masy ciała.

O zagrożeniu tworzenia mikotoksyn informuje genotyp patogena. Potwierdzają to wyniki testów PCR na obecność genu *Tri 5* przeprowadzone w niniejszych badaniach. Gen ten warunkuje potencjalną zdolność poszczególnych izolatów do produkcji mikotoksyn z grupy trichotecenów. Spośród trzech testowanych gatunków (*F. avenaceum*, *F. culmorum* i *F. poae*) u wszystkich izolatów *F. culmorum* i *F. poae* obserwowano produkt ampli-fikacji. Żaden z izolatów *F. avenaceum* nie posiadał genu *Tri 5*. Jest to zgodne z wyni-kami E d w a r d s a i in. (2001), którzy przetestowali 8 gatunków *Fusarium*, a brak produktu reakcji obserwowali jedynie w przypadku *F. avenaceum*, a po sztucznej in-okulacji ziarniaków tymi izolatami nie wykryli również obecności deoksyniwalenolu.

Uzyskane wyniki pozwoliły na wysunięcie następujących wniosków:

1. Zaobserwowano wyraźny wpływ systemu uprawy na ilościowy udział grzy-bów poszczególnych gatunków izolowanych z ziarna.
2. Nie stwierdzono większego zagrożenia występowaniem grzybów rodzaju *Fu-sarium* i mikotoksyn w systemie ekologicznym. Zasiedlenie ziarna przez te grzyby było wyraźnie niższe w stosunku do pozostałych systemów.
3. Wszystkie izolaty *F. culmorum* i *F. poae* posiadały w swym genomie gen *Tri 5*, warunkujący ich potencjalną zdolność do produkcji trichotecenów. Tego genu nie posiadał żaden z badanych izolatów *F. avenaceum*.

LITERATURA

- B a t u r o A., 2005. Zdrowotność ziarna czterech odmian jęczmienia jarego uprawianego w systemie ekologicznym w latach 1998–2002 na tle innych systemów (w druku).
- B a t u r o A., Ł u k a n o w s k i A., K u ś J., 2004. Comparison of health status of winter wheat and spring barley grain cultivated in organic, integrated and conventional systems

- and monoculture. Proceedings of the First world Conference on Organic Seed "Challenges and Opportunities for Organic Agriculture and the Seed Industry". July 5-7, 2004, FAO Headquarters, Rome, Italy: 128–132.
- Baturo-Czajkowska A., Łukanowski A., Sadowski Cz., 1999: Health status of winter wheat farmed under ecological and conventional conditions. Bull. Pol. Acad. Sci., Biol. Sci., 47 (2–3): 59–64.
- Bechtel D.B., Kaleikau L.A., Gaines R.L., Seitz L.M., 1985. The effects of *Fusarium graminearum* on wheat kernels. Cereal Chem. 62: 191–197.
- D’Mello J.P.F., Placinta C.M., Macdonald A.M.C., 1999. *Fusarium* mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. Animal Feed Sci. Techn. 80: 183–205.
- Dexter J.E., Marchylo R.M., Clear R.M., Clarke J.M., 1997. Effect of *Fusarium* head blight on semolina milling and pasta-making quality of durum wheat. Cereal Chem. 74: 519–525.
- Edwards S.G., Pirgozliev S.R., Hare M.C., Jenkinson P., 2001. Quantification of trichotecene-producing *Fusarium* species in harvested grain by competitive PCR to determine of fungicides against *Fusarium* Head Blight. Appl. Environ. Microbiol. 67, 4: 1575–1580.
- Eltun R., 1996. The Apelsvoll Cropping System Experiment, III. Yield and Grain Quality of Cereals. Norwegian J. Agric. Sci. 10: 7–21.
- Gilman J.C., 1957. A manual of soil fungi, IOWA State University Press.
- Kirchmann, H., Thorvaldsson G., 2000. Challenging Targets for Future Agriculture. Eur. J. Agron. 12: 145–161.
- Kwaśna H., Chełkowski J., Zajkowski P., 1991. Grzyby, t. XXII, PAN, Instytut Botaniki.
- Larinde M., 2004. Seed quality: an important aspect of organic seed production and seed trade. Proceedings of the First World Conference on Organic Seed "Challenges and Opportunities for Organic Agriculture and Seed Industry". July 5–7 2004, Rome, Italy: 13–15.
- Lemańczyk G., 2003. Interactions between Winter Wheat Root and Stem Base Health Status and Forecrop. Bull. Pol. Acad. Sci., Biol. Sci., 51 (3): 197–208.
- Lemańczyk G., Sadowski Cz., 2002. Fungal communities and health status of roots of winter wheat cultivated after oats and oats mixed with other crops. Bio Control 47: 349–361.
- Lovejoy, S.B., *Are Organic Foods Safer?* <http://www.inetport.com/~texasbot/lovejy.htm> (1994).
- Łukanowski A., 2003. Effect of chitosan on winter wheat infection by *Fusarium avenaceum*, *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum* and on growth of these fungi. Bull. Pol. Acad. Sci., Biol. Sci., 51 (2): 117–121.
- Łukanowski A., Baturo A., Sadowski Cz., 2002: Healthiness of winter wheat and spring barley farmed under different systems. Plant Prot. Sci., 38 (2): 662–666.
- Łukanowski A., Sadowski Cz., 2002: Occurrence of *Fusarium* on grain and heads of winter wheat cultivated in organic, integrated, conventional systems and monoculture. J. Appl. Genet., 43A: 103–110.

- Nightingale M.J., Marchylo J.E., Clear R.M., Dexter J.E., Preston K.R., 1999. *Fusarium* head blight: Effect of fungal proteases on wheat storage proteins. *Cereal Chem.* 76:150–158.
- Parry D.W., Nicholson P., 1996. Development of a PCR assay to detect *Fusarium poae* in wheat. *Plant Path.* 45: 383–391.
- Remlein-Starosta D., 2000: Wpływ czynników agrotechnicznych i fungicydów na występowanie grzybów z rodzaju *Fusarium* na pszenicy ozimej. Praca doktorska IOR Poznań.
- Sadowski Cz., Łukanowski A., 2005. Z badań nad zdrowotnością pszenicy ozimej uprawianej w systemie ekologicznym, integrowanym, konwencjonalnym i monokulturze w latach 1999–2004 (w druku).
- Sadowski Cz., Wyczling D., Łukanowski A., Baturó A., Lenc L., 2002: Occurrence of *Fusarium* on grain and ears of winter wheat and some mycotoxins depending on the cultivar and fungicides applied. *J. Appl. Genet.*, 43A: 69–78.
- Schilling A.G., Möller E.M., Geiger H.H., 1996. Polymerase chain reaction – based assays for species-specific detection of *Fusarium culmorum*, *F. graminearum* and *F. avenaceum*. *Phytopathology* 86: 515–522.
- Schollenberger M., Drochner W., Rühle M., Suchy S., Terry-Jara H., Müller H-M., 2005. Trichothecene toxins in different groups of conventional and organic bread of the German market. *J. Food Comp. Anal.* 18: 69–78.
- Schwarz P.B., Jones B.L., Steffenson B.J., 2002. Enzymes associated with *Fusarium* infection in barley. *J. Amer. Soc. Brew. Chem.* 60: 130–134.
- Wakuliński W., Chełkowski J., 1993. *Fusarium* species transmitted with seed of wheat, rye, baryle, oats and triticale. *Hod. Rośl. Aklim. i Nasien.* 37: 131–136.
- Zwankhuizen, M.J., Govers F., Zadoks J.C., 1998. Development of Potato Late Blight Epidemics: Disease Foci, Disease Gradients and Infection Sources. *Phytopathology.* 88: 754–763.

Streszczenie

Badano zasiedlenie przez grzyby ziarna pszenicy ozimej odmiany Roma uprawianej w czterech systemach w latach 1999–2002 na polach doświadczalnych IUNG. Wśród gatunków patogenicznych dominowały grzyby rodzaju *Fusarium*. Ich liczebność była najmniejsza na ziarniakach pochodzących z systemu ekologicznego. Najliczniej grzyby rodzaju *Fusarium* reprezentowane były na ziarnie zebranym w systemie integrowanym. Spośród gatunków saprotroficznych w każdym systemie zdecydowanie dominował *Alternaria alternata*. Najliczniej zasiedlał on ziarno w systemie ekologicznym. Potwierdzono poprawność oznaczenia *F. avenaceum*, *F. culmorum* oraz *F. poae* przy użyciu metody PCR. Wszystkie uzyskane izolaty *F. culmorum* i *F. poae* posiadały w swym genomie gen *Tri 5*, warunkujący ich potencjalną zdolność do produkcji mikotoksyn z grupy trichotecenów. Tego genu nie posiadał żaden z badanych izolatów *F. avenaceum*.

VACAT