

STRESZCZENIE

Fusarium poae jest patogenem zbóż oraz innych roślin uprawnych, zyskującym w ostatnim czasie na znaczeniu ze względu na coraz szersze występowanie. Jest stwierdzany w uprawach przede wszystkim pszenicy w całej Polsce i znalazł się w grupie najczęściej izolowanych z ziarna tego zboża gatunków z rodzaju *Fusarium* obok *Fusarium graminearum* i *Fusarium culmorum*. Gatunki te produkują szereg metabolitów wtórnych - mikotoksyn takich jak deoksyniwalenol (DON), niwalenol (NIV), toksyna T-2 (T-2) dla których prekursorem jest trichodien, czy zearalenon (ZEA), przy czym każdy z gatunków ma własny profil mikotoksynowy oraz określony potencjał genetyczny do syntezy poszczególnych związków.

Na podstawie szeregu doświadczeń polowych przeanalizowano konkurencyjność ekologiczną *F. poae* wobec pozostałych gatunków, jego profil mikotoksynowy oraz potencjalną szkodliwość. Materiał do badań pobrano z prób środowiskowych z uprawy pszenicy zwyczajnej uprawianej w systemie ekologicznym w województwie lubelskim. Pobrane próby ziarna poddano konwencjonalnej analizie mikologicznej uzyskując łącznie 679 izolatów grzybów. Wszystkie izolaty *Fusarium* spp. w liczbie 126, w tym *F. poae* oraz niezarodnikujące izolaty *Fusarium* spp. poddano analizie molekularnej w celu potwierdzenia przynależności gatunkowej. Ostatecznie potwierdzono przynależność 108 izolatów do rodzaju *Fusarium*, w tym 21 izolatów *F. poae* i 9 izolatów *F. sporotrichioides*, które wykorzystano do dalszych badań.

W obrębie *F. poae* stwierdzono szczepy mikrokonidialne oraz mieszane, wytwarzające zarówno mikro- jak i makrokonidia. Na podstawie dynamiki przyrostu grzybni wybrano do kolejnego etapu badań 3 izolaty, po jednym z obu grup *F. poae* oraz jeden *F. sporotrichioides*. Wykonano serię doświadczeń polowych, trwającą 3 sezony wegetacyjne, z użyciem 3 odmian pszenicy jarej oraz 3 odmian pszenicy ozimej, cechujących się wysoką odpornością na fuzariozy, uprawianych w systemie ekologicznym. Dobór odmian pozwolił ograniczyć wpływ środowiskowych szczepów *Fusarium* spp. w uprawie. Wykonano inokulację kłosów szczepami doświadczalnymi, w każdej z odmian pszenicy, zakładając doświadczenie czteroobiektywne (3 obiekty inokulowane wybranymi szczepami *Fusarium* spp. oraz obiekt kontrolny). Próby uzyskane z plonu w każdym sezonie poddawano konwencjonalnej analizie mikologicznej, pozyskując izolaty *Fusarium* spp.

Równolegle przeprowadzono analizę profilu mikotoksyn dla każdego obiektu w ziarnie oplewionym (24 próby w każdym sezonie) oraz w mące (24 próby w każdym sezonie) z użyciem komercyjnych immunoenzymatycznych testów ELISA. Przeprowadzono również analizę molekularną izolatów, pod kątem występowania *F. poae* i *F. sporotrichioides* na tle innych gatunków *Fusarium* spp. uzyskując odpowiednio 269 i 116 izolatów.

W odniesieniu do w/w wymienionych gatunków, przeprowadzono chemotypowanie z użyciem starterów specyficznych dla genów Tri5 (synteza trichodieniu), Tri4 (podział szlaków metabolicznych na produkcję trichotecenów typu A i B), Tri7 (NIV u *F. poae*), esyni (enniatyny u wszystkich szczepów) oraz Tri16 (T-2 u wszystkich szczepów). W każdym przypadku, niezależnie od gatunku, prowadzono wszystkie testy.

Uzyskane wyniki przeanalizowano z użyciem wielowymiarowej wieloczynnikowej analizy wariancji (MANOVA) z analizą kontrastów oraz analizy korespondencji pod kątem zależności pomiędzy występowaniem mikotoksyn, a badanym gatunkiem *Fusarium* spp. Analizowano konkurencyjność *F. poae* użytego do inokulacji wobec szczepów środowiskowych i występowanie mikotoksyn w plonie oraz pochodzącym z niego surowcu dla przemysłu spożywczego. Wyniki opracowano w kontekście przebiegu warunków pogody w danym sezonie wegetacyjnym i odniesiono do średniej wieloletniej.

Na podstawie przeprowadzonych badań oceniono, że występowanie *F. poae* stanowi istotny czynnik w ocenie jakości zboża i produktów zbożowych. Zwiększanie udziału tego gatunku w próbach z terenu Polski powinno skłonić do wzrostu uwagi poświęcanej jego biologii, ekologii i toksykologii wytwarzanych przez niego metabolitów wtórnych. Należy uwzględnić jego obecność i produkowane przez niego mikotoksyny przy ocenie jakości ziarna. Konieczne jest także opracowanie i wdrożenie bardziej szczegółowych regulacji prawnych dotyczących zawartości poszczególnych mikotoksyn w produktach spożywczych. Uzyskane wyniki wskazują także, że z uwagi na duże znaczenie *Fusarium poae* jako patogenu zbóż, należy uwzględnić tworzone przez niego mikotoksyny w analizach prób ziarna. Należy zatem dążyć do opracowania spójnego systemu oceny jakości i bezpieczeństwa produkcji rolniczej w zakresie występowania fuzarioz i zanieczyszczenia mikotoksynami.

ABSTRACT

Fusarium poae is a gaining pathogen of cereals and other crops in recent times in importance due to its increasing occurrence. It is found mainly in wheat throughout Poland and is among the most frequently isolated species of the *Fusarium* genus, next to *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum*. These species produce several secondary metabolites - mycotoxins such as deoxynivalenol (DON), nivalenol (NIV), T-2 toxin (T-2) for which the precursor is trichodiene, or zearalenone (ZEA). Each species has its own mycotoxin profile and a specific genetic potential for the synthesis of individual compounds.

Based on a series of field trials, the ecological competitiveness of *F. poae* against other species, its mycotoxin profile and potential harmfulness were analyzed. The research material was collected from environmental samples of common wheat grown in the ecological system in the Lubelskie Voivodeship. Grain samples were collected and subjected to conventional mycological analysis, obtaining a total of 679 isolates. All 126 *Fusarium* spp. isolates, including *F. poae* and non-sporulating isolates of *Fusarium* spp. were subjected to molecular analysis to confirm species affiliation. Finally, 108 isolates were confirmed to belong to the *Fusarium* genus, including 21 isolates *F. poae* and 9 isolates of *F. sporotrichioides*, which were used for further studies.

Within *F. poae*, microconidial and mixed strains were found, producing both micro- and macroconidia. Based on the dynamics of mycelium growth, 3 isolates were selected for the next stage of the study, one from both *F. poae* groups and one *F. sporotrichioides*. A series of field experiments was carried out, lasting 3 growing seasons, with the use of 3 varieties of spring wheat and 3 varieties of winter wheat, characterized by high resistance to fusariosis, grown in the ecological system. The selection of varieties allowed to limit the impact of environmental *Fusarium* spp. strains in cultivation. Wheat ears were inoculated with tested strains, in each of the wheat cultivars, assuming a four-object trial (3 objects inoculated with selected *Fusarium* spp. strains and a control one). The samples obtained from the yield in each season were subjected to conventional mycological analysis, in grain (24 samples in each season) and in flour (24 samples in each season) using commercial ELISA assays. The molecular analysis of isolates was also carried out in terms of the presence

of *F. poae* and *F. sporotrichioides* against the environmental isolates of other *Fusarium* spp. species, obtaining 269 and 116 isolates, respectively.

In relation to the above-mentioned species, chemotyping was carried out with the use of primers specific for genes Tri5 (trichodiene synthesis), Tri4 (division of metabolic pathways into the production of trichothecenes type A and B), Tri7 (NIV in *F. poae*), esyn1 (enniain in all strains) and Tri6 (T-2 in all strains). In all cases, regardless of species, all tests were performed.

The obtained results were analyzed using the multivariate analysis of variance (MANOVA) with contrast analysis as a multiple comparison procedure and the correspondence analysis in terms of the relationship between the presence of mycotoxins and the tested *Fusarium* spp. species. The competitiveness of *F. poae* used for inoculation against environmental strains and the presence of mycotoxins in the crop and its raw material for the food industry were analyzed. The results were compiled in the context of the weather conditions in each growing season and compared to the long-term average.

Based on the conducted research, it was assessed that the presence of *F. poae* is an important factor in the assessment of the quality of grain and cereal products. The increasing share of this species in samples from Poland should lead to increased attention to its biology, ecology, and toxicology of secondary metabolites. Its presence and the mycotoxins produced by it should be considered when assessing the quality of the grain. It is also necessary to develop and implement more detailed legal regulations regarding the content of individual mycotoxins in food products. The obtained results also indicate that due to the great importance of *Fusarium poae* as a cereal pathogen, mycotoxins created by it should be considered in grain sample analyzes. Therefore, efforts should be made to develop a coherent system for assessing the quality and safety of agricultural production in terms of the occurrence of fusariosis and mycotoxin contamination.