

Konferencja Polskiego Towarzystwa Fitopatologicznego "Nowoczesne spojrzenie na fitopatologię"

Książka abstraktów



7-8 września 2022 r.



Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu



POLSKA AKADEMIA NAUK
Komitet Nauk Agronomicznych
PAN



INSTYTUT OCHRONY ROŚLIN
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY

Konferencja odbyła się pod honorowym patronatem JM Rektora Uniwersytetu
Przyrodniczego w Poznaniu prof. dr. hab. Krzysztofa Szoszkiewicza.

Publikacja została wydana przy wsparciu Biura Upowszechnienia i Promocji Nauki
Polskiej Akademii Nauk.

Komitet Organizacyjny

Przewodniczący Komitetu Organizacyjnego

Zbigniew Karolewski

Sekretariat

Marta Bełka

Joanna Kaczmarek

Członkowie

Małgorzata Jędryczka

Małgorzata Mańka

Natasza Borodynko-Filas

Marek Korbas

Dorota Szopińska

Lidia Irzykowska

Roman Andrzejak

Spis treści

Prezentacje ustne

| | |
|--|----|
| Plant pathology research at the Taras Shevchenko National University of Kyiv | 11 |
| Znaczenie endofitów w uprawach roślin i glonów | 12 |
| The role of endophytes in plant and algae cultivation..... | 13 |
| System SPEC: osiemnaście lat monitorowania stężenia zarodników grzybów <i>Plenodomus lingam</i> i <i>P. biglobosus</i> w Polsce | 14 |
| SPEC system: eighteen years of monitoring spore concentrations of <i>Plenodomus lingam</i> and <i>P. biglobosus</i> in Poland..... | 15 |
| <i>Fusarium proliferatum</i> jako endofit zasiedlający tkanki pszenicy chlebowej..... | 16 |
| <i>Fusarium proliferatum</i> as an endophyte colonizing bread wheat tissues | 17 |
| Dynamika populacji gatunków <i>Fusarium</i> zasiedlających ziarno kukurydzy oraz skażenie mykotoksynami fuzaryjnymi na terenie Polski w latach 2016-2018 | 18 |
| Dynamics of <i>Fusarium</i> populations isolated from maize in Poland during 2016-2018 period and grain contamination with mycotoxins..... | 19 |
| Zróżnicowanie molekularne gatunków kompleksu <i>Fusarium fujikuroi</i> powodujących fuzariozę kolb kukurydzy | 20 |
| Molecular diversity of the <i>Fusarium fujikuroi</i> species complex associated with ear rot of maize | 21 |
| Interakcja mykopasożytniczego szczepu <i>Trichodema koningiopsis</i> i fitopatogenicznego szczepu <i>Fusarium culmorum</i> w obecności metali ciężkich (Cd, Pb, Zn)..... | 22 |
| Interaction of a mycoparasitic <i>Trichodema koningiopsis</i> strain and a phytopathogenic <i>Fusarium culmorum</i> strain in the presence of heavy metals (Cd, Pb, Zn)..... | 23 |
| Modyfikacje procesu infekcyjnego <i>Fusarium graminearum</i> przez drożdże..... | 24 |
| Yeasts modify the <i>Fusarium graminearum</i> infection process in grain..... | 25 |
| Zróżnicowanie genetyczne satelitarnych RNA wirusa czarnej pierścieniowej plamistości pomidora i ich wpływ na akumulację wirusa w roślinach..... | 26 |
| Genetic variability of tomato black ring virus satellite RNAs and their impact on virus accumulation in plants | 27 |
| Wykorzystanie nowoczesnych metod biologii molekularnej do określenia patogeniczności torradowirusów | 28 |
| Utilizing molecular biology techniques to identify the pathogenicity of torradoviruses..... | 29 |
| Asocjacyjne i fizyczne mapowanie markerów związanych z opornością na fuzarium u kukurydzy, uzyskanych w wyniku sekwencjonowania nowej generacji (NGS)..... | 30 |
| Associative and Physical Mapping of Markers Related to <i>Fusarium</i> in Maize Resistance, obtained by Next-Generation Sequencing (NGS) | 31 |
| Profil ekspresji genu Lr34 i związanych z nim miRNA u pszenicy zwyczajnej podczas reakcji odpornościowej na porażenie rdzą brunatną (<i>Puccinia triticina</i>) | 32 |

| | |
|--|----|
| The expression patterns of the <i>Lr34</i> gene and associated miRNAs in common wheat during resistance response to leaf rust (<i>Puccinia triticina</i>) infection | 33 |
| Nowe induktory odporności jabłoni w zwalczaniu zarazy ogniowej (<i>Erwinia amylovora</i>) | 34 |
| New apple resistance inducers in the control of fire blight (<i>Erwinia amylovora</i>)..... | 35 |
| Kiła kapusty w Polsce..... | 36 |
| Clubroot in Poland..... | 36 |
| Co czyha w glebie, powietrzu i wodzie? | 37 |
| What lurks in soil, air and water?..... | 38 |
| Mikrobiomy w agroekosystemach – bioróżnorodność funkcjonalna i strukturalna oraz interakcje i mechanizmy istotne dla rozwoju zrównoważonych strategii produkcji rolniczej..... | 39 |
| Microbiomes in agroecosystems - functional and structural biodiversity as well as interactions and mechanisms important for the development of sustainable agricultural production strategies..... | 40 |
| Wpływ kontaminacji gleby patogenem <i>Rhizoctonia solani</i> na profil metaboliczny mikroorganizmów ryzosfery wybranych odmian ziemniaka | 41 |
| The impact of soil contamination by <i>Rhizoctonia solani</i> pathogen on metabolic profile of rhizospheres microorganisms of selected potato cultivars | 42 |
| Obfitość grzybów fitopatogenicznych oraz pozostałych gildii w glebie, ryzosferze, korzeniach i liściach ekologicznej truskawki | 43 |
| Abundance of phytopathogenic fungi and other guilds in soil, rhizosphere, roots and leaves of organic strawberry | 44 |
| Wpływ grzybów endomikoryzowych rodzaju <i>Rhizophagus</i> na mechanizm wyższej odporności roślin trawiastych na porażenie przez patogeny..... | 45 |
| The effects of endomycorrhizal fungi of the genus <i>Rhizophagus</i> on the mechanism of increased resistance of grass plants to pathogens | 46 |
| Nova Trawa – Wprowadzenie na rynek innowacyjnej odmiany życicy trwałej zasiedlonej przez symbiotyczne grzyby endofityczne..... | 47 |
| Technologia eradykacji endofitów w produkcji traw modyfikowanych symbiotycznie..... | 49 |
| Endophyte eradication technology in the production of symbiotically modified grasses..... | 50 |
| Antagonistyczna aktywność bakterii kwasu mlekowego przeciwko rozwojowi <i>Botrytis cinerea</i> na sałacie i szpinaku | 51 |
| Antagonistic activity of lactic acid bacteria against development of <i>Botrytis cinerea</i> on lettuce and spinach..... | 52 |
| Aktywność genów SOD, PR9 oraz HSP70 pszenicy pod wpływem traktowania grzybami endofitycznymi | 53 |
| The activity of wheat SOD, PR9, and HSP70 genes under the treatment with endophytic fungi..... | 54 |
| Potencjał grzybów endofitycznych w ochronie i stymulacji rozwoju roślin pszenicy, na przykładzie grzybów z rodzaju <i>Sarocladium</i> | 55 |
| The potential of endophytic fungi in protecting and promoting wheat plants development, on the basis of <i>Sarocladium</i> fungi..... | 56 |
| Zmiany klimatu, a nowe potencjalne zagrożenia dla lasów środkowo-europejskich | 57 |

Krótkie prezentacje ustne posterów

| | |
|--|----|
| Pochodzenie i struktura defektywnych cząsteczek RNA wirusa czarnej pierścieniowej plamistości pomidora (TBRV) | 60 |
| Origin and structure of defective RNA particles associated with tomato black ring virus | 61 |
| Biostymulatory - związki inne niż pestycydy. Wpływ induktorów odporności, BTH i jego pochodnych, na przeciwwirusowe mechanizmy obronne roślin..... | 62 |
| Biostimulants - compounds other than pesticides. Effect of resistance inducers, BTH and its derivatives, on plant's antiviral defence mechanisms | 63 |
| Ekspresja wybranych genów odporności na suchą zgniliznę kapustnych u mieszańców oddalonych z rodzaju <i>Brassica</i> | 64 |
| Analysis of selected blackleg resistance gene expression in <i>Brassica</i> interspecific hybrids | 65 |
| Wykrywanie utajonych infekcji jabłek powodowanych przez grzyby rodzaju <i>Monilinia</i> z wykorzystaniem techniki LAMP | 66 |
| Detection of latent infections of apples caused by fungi of the <i>Monilinia</i> genus using the LAMP technique..... | 67 |
| Wykrywanie i identyfikacja wirusów infekujących paprykę w Polsce..... | 68 |
| Detection and identification of viruses infecting peppers in Poland | 69 |
| Ocena zdrowotności zieleni na wybranych skwerach w Warszawie – wstępna analiza fitopatologiczna i zalecenia w zakresie zarządzania..... | 70 |
| Health assessment of greenery in selected green squares in Warsaw - preliminary phytopathological analysis and management recommendations | 71 |
| <i>Botrytis cinerea</i> patogen borówki wysokiej | 72 |
| <i>Botrytis cinerea</i> pathogen of highbush blueberry..... | 73 |
| Reakcja 10 odmian jęczmienia jarego na porażenie kłosów przez <i>Fusarium sporotrichioides</i> Sherb. z uwzględnieniem zawartości mykotoksyn w ziarnie | 74 |
| Reaction of 10 spring barley cultivars to <i>Fusarium sporotrichioides</i> Sherb. infection and mycotoxin concentrations in grain..... | 75 |
| Inhibicja wzrostu <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> i <i>Alternaria solani</i> przez bakterie izolowane z gleb Spitsbergenu..... | 76 |
| Growth inhibition of <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> and <i>Alternaria solani</i> by bacteria isolated from Spitsbergen soils..... | 77 |
| Ocena skuteczności substancji podstawowych i biopreparatów w hamowaniu suchej zgnilizny w uprawie pieczarki..... | 78 |
| Assessment of the effectiveness of basic substances and biopreparations in the control of dry bubble in mushroom cultivation | 79 |
| Badania nad endofitami rodzaju <i>Epichloë</i> w życicy trwałej | 80 |
| Research on endophytes of the genus <i>Epichloë</i> in perennial ryegrass..... | 81 |

| | |
|---|----|
| Zdolność rozkładu drewna przez <i>Gymnopilus junonius</i> (Fungi, Agaricales) | 82 |
| Wood decay ability of <i>Gymnopilus junonius</i> (Fungi, Agaricomycota) | 83 |
| Strategie w cyklach płciowych podstawczaków jako metody osiągnięcia różnorodności... 84 | 85 |
| Strategies in the sex cycles of basidiomycetes as methods of achieving diversity..... | 85 |
| Różnorodność fenotypowa grzybów z rodzaju <i>Verticillium</i> i <i>Trichoderma</i> a konkurencja o źródła azotu (Biolog® PM6) | 86 |
| Phenotypic diversity of <i>Verticillium</i> and <i>Trichoderma</i> genera and the competition for nitrogen sources (Biolog® PM6)..... | 87 |

Postery

| | |
|---|-----|
| Choroby odglebowe truskawek diagnozowane w uprawach polowych w gruncie | 89 |
| Środowiskowe izolaty grzybów należących do rodzaju <i>Neofabraea</i> , powodujące gorzką zgniliznę jabłek w Polsce | 91 |
| Environmental isolates of <i>Neofabraea</i> genus fungi causing bitter rot of apples in Poland..... | 92 |
| Etapy infekcji pszenicy twardej przez <i>Fusarium graminearum</i> | 93 |
| Stages of <i>Fusarium graminearum</i> infection in durum wheat | 94 |
| Fuzarioza kolb kukurydzy – etiologia choroby | 95 |
| Fusarium ear rot – etiology of disease | 96 |
| Zgnilizna twardzikowa (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary) chmielu..... | 97 |
| Sclerotinia wilt of hops (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary). | 98 |
| Występowanie rdzy źdźbłowej w uprawach pszenicy i pszenżyta w Polsce | 99 |
| The occurrence of stem rust in wheat and triticale crops in Poland | 100 |
| Grzyby zasiedlające nadziemne organy pigwowca japońskiego (<i>Chaenomeles japonica</i> (Thunb.) Lindl. ex Spach.) i ich wzajemne oddziaływanie | 101 |
| Fungi inhabiting the aboveground organs of the Japanese Quince (<i>Chaenomeles japonica</i> (Thunb.) Lindl. ex Spach.) and their interaction..... | 102 |
| Fenotyp roślin rzepaku z objawami porażenia chorobotwórczym grzybem <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> – porównanie czterech metod inokulacji..... | 103 |
| Phenotype of oilseed rape plants with symptoms of infection by the pathogenic fungus <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> – the comparison of four inoculation methods | 104 |
| Ocena zróżnicowania genetycznego szczepów <i>Pseudomonas syringae</i> powodujących kanciastą plamistość ogórka (<i>Cucumis sativus</i> L.) | 105 |
| The genetic and genomic assessment of <i>Pseudomonas syringae</i> strains causing angular leaf spot on cucumber (<i>Cucumis sativus</i> L.) | 106 |
| Choroby wirusowe kukurydzy w ekologicznym i integrowanym systemie uprawy | 107 |
| Diseases caused by viruses of maize in organic and integrated farming systems | 108 |
| <i>Aceria tosichella</i> – nowy wektor wirusa mozaiki stokłosy (brome mosaic virus, BMV)..... | 109 |
| <i>Aceria tosichella</i> - a new vector of brome mosaic virus (BMV)..... | 110 |

| | |
|--|-----|
| Charakterystyka molekularna izolatów wirusa łagodnej żółtaczki brzegów liści truskawki wykrytego po raz pierwszy w Polsce | 111 |
| Molecular characterization of <i>Strawberry mild yellow edge virus</i> isolates detected for the first time in Poland..... | 112 |
| Occurrence of Cucumber mosaic virus and Turnip mosaic virus in <i>Alliaria petiolata</i> in Ukraine | 113 |
| Etiologia miękkiej zgnilizny alokazji amazońskiej (<i>Alocasia amazonica</i>)..... | 114 |
| Etiology of alocasia (<i>Alocasia amazonica</i>) soft rot..... | 115 |
| Zdrowotność drzew w starych sadach w gminie Komańcza | 116 |
| Health of trees in old orchards in Komańcza commune | 117 |
| Infekcyjne kopie TBRV zasocjowane z białkiem GFP narzędziem do analiz oddziaływań patogen-gospodarz | 118 |
| Infectious clones of tomato black ring virus fused with green fluorescence protein (GFP) as a tool for virus-plant interactions analysis..... | 119 |
| Generowanie wolnych rodników przez hemibiotroficznego grzyba <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>pisi</i> w zróżnicowanych warunkach troficznych..... | 120 |
| Generation of free radicals by the hemibiotrophic fungus <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>pisi</i> in various trophic conditions | 121 |
| Fizjologiczne zmiany zachodzące w liściach pomidora w wyniku infekcji <i>Pseudomonas syringae</i> i w obecności <i>Alcaligenes faecalis</i> | 122 |
| Physiological changes in tomato leaves as a result of infection with <i>Pseudomonas syringae</i> and in the presence of <i>Alcaligenes faecalis</i> | 123 |
| Aktywność enzymów (PAL, TAL) szlaku fenylopropanoidowego w tkankach pszenicy po inokulacji nasion EPS uzyskanym z hodowli fitopatogenicznego szczepu <i>Fusarium graminearum</i> (DEMFG36) . | 124 |
| The activity of the phenylpropanoid pathway enzymes (PAL, TAL) in wheat tissues after seed inoculation with EPS obtained from the culture of the phytopathogenic <i>Fusarium graminearum</i> strain (DEMFG36)..... | 125 |
| Identyfikacja odporności pszenicy jarej na rdze (<i>Puccinia</i> spp.), septoriozę plew (<i>Stagnospora nodorum</i>) oraz mączniaka prawdziwego (<i>Blumeria graminis</i>) w fazie rośliny dorosłej..... | 126 |
| Identification of rusts (<i>Puccinia</i> spp.), septoria nodorum (<i>Stagnospora nodorum</i>) and powdery mildew (<i>Blumeria graminis</i>) adult plant resistance in spring wheat..... | 127 |
| Identyfikacja odporności jęczmienia jarego na rdze (<i>Puccinia</i> spp.) oraz mączniaka prawdziwego (<i>Blumeria graminis</i>) w fazie kłoszenia i mleczno-woskowej | 128 |
| Identification of rusts (<i>Puccinia</i> spp.) and powdery mildew (<i>Blumeria graminis</i>) spring barley resistance at heading and milky-waxy stages | 129 |
| Reakcja genotypów pszenicy (<i>Triticum aestivum</i> L.) na patogeny z rodzaju <i>Rhizoctonia</i> | 130 |
| Wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.) genotype reaction to pathogens of the <i>Rhizoctonia</i> genus..... | 131 |
| Badanie materiałów wyjściowych rzepaku (<i>Brassica napus</i> L.) odpornych na wirusa żółtaczki rzepy (TuYV) | 132 |
| Research new breeding lines of oilseed rape (<i>Brassica napus</i> L.) resistant to Turnip Yellow Virus (TuYV) | 133 |

| | |
|---|-----|
| Wpływ glikoalkaloidów z liści różnych <i>Solanum</i> spp. na enzymy pektynolityczne u bakterii <i>Dickeya solani</i> i <i>Pectobacterium brasiliense</i> | 134 |
| Effect of glycoalkaloids from leaves of various <i>Solanum</i> spp. on pectinolytic enzymes in <i>Dickeya solani</i> and <i>Pectobacterium brasiliense</i> | 135 |
| Problemy i nowe rozwiązania dotyczące diagnostyki kwarantannowej bakterii <i>Clavibacter sepedonicus</i> - sprawcy bakteriozy pierścieniowej ziemniaka | 136 |
| Problems and new solutions in diagnostics of <i>Clavibacter sepedonicus</i> - quarantine bacteria responsible for ring rot of potato..... | 137 |
| Metody izolacji fitopatogenów występujących w ekologicznej uprawie truskawki | 138 |
| Methods of isolating phytopathogens occurring in ecological strawberry cultivation..... | 139 |
| Identyfikacja bakterii <i>Agrobacterium cucumeris</i> sp. nov. wywołujących chorobę szalonych korzeni na ogórkach uprawianych metodą hydroponiczną w Polsce | 140 |
| Identification of <i>Agrobacterium cucumeris</i> sp. nov. as the causal agent of crazy roots on hydroponically cultivated cucumber plants in Poland | 141 |
| Identyfikacja i różnicowanie genetyczne wirusa mozaiki kolokazji (DsMV) | 142 |
| Identification and genetic diversity of dasheen mosaic virus (DsMV) | 143 |
| Wykrywanie utajonych infekcji jabłek powodowanych przez grzyby z rodzaju <i>Neofabraea</i> z wykorzystaniem techniki LAMP | 144 |
| Detection of latent infections of apples caused by fungi of the genus <i>Neofabraea</i> using the LAMP technique..... | 145 |
| Mikroskopowa i molekularna detekcja zarodników <i>Cercospora beticola</i> z prób powietrza w rejonach intensywnej uprawy buraka cukrowego w Polsce | 146 |
| Microscopic and molecular detection of <i>Cercospora beticola</i> spores from air samples in intensive sugar beet growing regions of Poland..... | 147 |
| Postępy w wykrywaniu pojawiających się chorób drzew i nasion poprzez pomiary lotnych metabolitów wtórnych..... | 148 |
| Advances in detecting emerging tree and seed diseases by measuring volatile secondary metabolites..... | 149 |
| Ocena skuteczności wybranych preparatów w ochronie jabłoni przed sprawcą parcha jabłoni (<i>Venturia inaequalis</i>) | 150 |
| Evaluation of the effectiveness of selected preparations in the protection of apple trees against the causative agent of apple scab (<i>Venturia inaequalis</i>)..... | 151 |
| Badania <i>in vitro</i> antagonistycznego oddziaływania wybranych grzybów na <i>Bipolaris sorokiniana</i> (Sacc.) Shoem. | 152 |
| <i>In vitro</i> screening of antagonistic effect of selected fungi on <i>Bipolaris sorokiniana</i> (Sacc.) Shoem... .. | 153 |
| Implementacja niskotemperaturowej plazmy pod ciśnieniem atmosferycznym do eliminacji patogenów roślinnych z powierzchni nasion ważnych ekonomicznie roślin | 154 |
| Implementation of a non-thermal atmospheric pressure plasma for eradication of plant pathogens from a surface of economically important seeds..... | 155 |
| Woda elektrolizowana jako alternatywna zaprawa dla nasion warzyw | 156 |

| | |
|--|-----|
| Electrolysed water as an alternative seed treatment for vegetables | 157 |
| Wpływ wybranych substancji pochodzenia roślinnego na jakość przechowywanych nasion cebuli (<i>Allium cepa</i> L.) | 158 |
| The effect of selected substances of plant origin on a quality of stored onion (<i>Allium cepa</i> L.) seeds..... | 159 |
| Wpływ wybranych hydrolatów roślinnych na zdrowotność nasion cebuli (<i>Allium cepa</i> L.) | 160 |
| Effect of selected plant hydrolates on the health of onion (<i>Allium cepa</i> L.) seeds..... | 161 |
| Wpływ nadtlenku wodoru na kiełkowanie, wigor i zdrowotność nasion kapusty (<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i> L.)..... | 162 |
| The effect of hydrogen peroxide on germination, vigour and health of cabbage (<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i> L.) seeds..... | 163 |
| Grzyby zasiedlające nasiona soi - skutki ich występowania dla materiału siewnego i metody eliminacji | 164 |
| Soybean seed-borne fungi – effects of their occurrence on seed sowing material and methods of their elimination..... | 165 |
| Badanie skuteczności wybranych ekstraktów roślinnych wobec grzybów z rodzaju <i>Neosartorya</i> z wykorzystaniem mikroplacytek MT2 Biolog™ - intensywność oddechowa oraz przyrost biomasy..... | 166 |
| The research of the effectiveness of selected plant extracts against fungi of the <i>Neosartorya</i> genus using MT2 Biolog™ microplates - respiration intensity and biomass production..... | 167 |
| Zastosowanie tytoniu w ochronie roślin | 168 |
| The use of tobacco in plant protection | 169 |
| Badania skринingowe metabolizmu grzybów fitopatogenicznych <i>Botrytis cinerea</i> poddanych działaniu różnych stężeń octu drzewnego..... | 170 |
| Screening at the metabolism level of the phytopathogenic fungi <i>Botrytis cinerea</i> exposed to different concentration of pyroligneous acid..... | 171 |
| Wpływ bakterii <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> i <i>Bacillus subtilis</i> na wzrost w warunkach <i>in vitro</i> patogenów występujących w uprawie rzepaku | 172 |
| The effect of <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> and <i>Bacillus subtilis</i> on <i>in vitro</i> growth of oilseed rape pathogens..... | 173 |
| Reakcja <i>Microcyclosporella mali</i> sprawcy brudnej plamistości jabłek na olejki eteryczne..... | 174 |
| Reaction of <i>Microcyclosporella mali</i> -the causal agent of sooty blotch on apple to essential oils..... | 175 |
| Wpływ inokulantu <i>Rhizobium</i> i fungicydu stosowanego do nasion na aparat symbiotyczny soi w warunkach suszy jako rozwiązanie biotechnologiczne w warunkach zmiany klimatu..... | 176 |
| <i>Rhizobium</i> inoculant and seed-applied fungicide effects on the soybean symbiotic apparatus under drought as a biotechnology solution in the climate change conditions | 177 |
| Wpływ nowej pochodnej benzotiadiazolu na wzrost i rozwój tulipana oraz ograniczenie fuzariozy . | 178 |
| Effect of new derivative benzotiadiazole on tulip growth and development as well as reduction of fusariosis..... | 179 |
| Biologiczne i agrotechniczne metody ograniczania wirusa mozaiki tytoniu w uprawie <i>Nicotiana tabacum</i> L..... | 180 |

| | |
|---|-----|
| Biological and agro-technical methods of tobacco mosaic virus control in cultivation of <i>Nicotiana tabacum</i> L..... | 181 |
| Ocena działania wybranych olejków eterycznych jako źródła substancji wirusobójczych do ochrony roślin przed wirusem mozaiki ogórka..... | 182 |
| The evaluation of selected essential oils as a source of antiviral substances for protection plants against <i>Cucumber mosaic virus</i> | 183 |
| Wpływ fosforowego bionawozu na zróżnicowanie populacji fitopatogenów grzybowych zasiedlających glebę zdegradowaną chemicznie | 184 |
| The effect of phosphorus biofertilizer on the diversity of fungal phytopathogens population inhabiting chemically degraded soil..... | 185 |
| Wpływ inokulum bakterii pożytecznych na zdolności funkcjonalne zbiorowisk mikroorganizmów zasiedlających fylosferę i ryzosferę malin..... | 186 |
| The effect of beneficial bacteria inoculum on the functional abilities of microbial communities inhabiting raspberry phyllosphere and rhizosphere | 187 |
| Wpływ regulatorów wzrostu na jakość bulw ziemniaka | 188 |
| The effect of plant growth regulators on the quality of potato tubers | 189 |
| Wpływ fitopatogenów na rozwój inwazji obcych gatunków roślin..... | 190 |
| Phytopathogens and their influence to the invasion development of alien plant species..... | 191 |
| Różnorodność bakterii glebowych w wybranych szkółkach leśnych | 192 |
| Bacterial biodiversity in selected forest nurseries | 193 |
| Zmiany rozmieszczenia fitopatogenów względem innych grup mikroorganizmów w glebie w zależności od głębokości i uprawianej rośliny..... | 194 |
| Changes of phytopathogens distribution comparing to the other microbial groups depending to on the soil depth and cultivated plants..... | 195 |

* Za treść abstraktów odpowiadają ich autorzy

* The content of the contributions is in the responsibility of the authors

Prezentacije ustne

Plant pathology research at the Taras Shevchenko National University of Kyiv

Oleksiy Shevchenko¹, Irena Budzanivska¹, Larysa Skivka², Natalia Taran³, Tetiana Shevchenko¹

¹Taras Shevchenko National University of Kyiv, Department of Virology, 64/13, Volodymyrska Street, City of Kyiv, Ukraine, 01601

²Taras Shevchenko National University of Kyiv, Department of Microbiology and Immunology, 64/13, Volodymyrska Street, City of Kyiv, Ukraine, 01601

³Taras Shevchenko National University of Kyiv, Department of Plant Biology, 64/13, Volodymyrska Street, City of Kyiv, Ukraine, 01601

e-mail: alexshevchenko@ukr.net

Here we describe major directions of plant pathology research at the biggest university of Ukraine, Taras Shevchenko National University of Kyiv. Mainly, phytopathology studies are conducted at three neighboring departments: Virology, Microbiology and Immunology, and Plant Biology. Every department is famous for its unique research but there are quite a few common aspects joining us together and making the outcomes solid in the context of plant diseases. Most of the aspects of our research are defined by the widely cultivated plant cultures and/or current issues of their pathology (viruses, microbes or abiotic stresses).

Further, the main aspects of our research are listed and will be discussed during the talk: diagnostics and study of viruses of the main crops cultivated in Ukraine, influence of viruses on crop yield and content of biologically active substances, virus-induced physiological and biochemical changes in plants, variability of plant viruses under climate change, molecular epidemiology and evolution of plant viruses, development of strategies to control the spread of plant virus infections, development of test systems for plant virus diagnostics, complex analysis of bacteriophages of phytopathogenic bacteria, investigation of endophytic microbial communities in a search for candidates for the development of plant protection products, elucidation of the adaptive reactions of plants to pathogens and its exogenous regulation by biotic and abiotic effectors, use of biocidal metal nanoparticles as stress-modeling effects of pathosystems, and pre-screening of regulatory systems of different plant genotypes during infection.

References:

1. Kawakubo S, Gao F, Li S et al. (2021) Genomic analysis of the brassica pathogen turnip mosaic potyvirus reveals its spread along the former trade routes of the Silk Road. *PNAS*, 118(12) e2021221118.
2. Holovan V, Andriichuk O, Budzanivska I et al. (2021) Bacteriophages and their microbial hosts in terrestrial biotopes of Antarctica. *Antarctic Science*, 1-17.
3. Mishchenko L, Nazarov T, Dunich A, et al. (2021) Impact of wheat streak mosaic virus on peroxisome proliferation, redox reactions, and resistance responses in wheat. *IJMS*, 22(19): 10218.
4. Pastoshchuk A, Yumyna Y, Zelena P, et al. (2021) Beneficial traits of grain-resided endophytic communities in wheat with different sensitivity to *Pseudomonas syringae*. *Regul Mech*, 12(3): 498-505.
5. Zlatohurska, M, Gorb, T, Romaniuk, L, et al. Complete genome sequence analysis of temperate *Erwinia* bacteriophages 49 and 59. *J Basic Microbiol*. 2019; 59: 754–764.

Znaczenie endofitów w uprawach roślin i glonów

Yuliia Korzh¹, Mykola Baranets², Krzysztof Sikorski³, Katarzyna Turnau³

¹Institute of Microbiology and Virology, Kyiv Medical University, Ukrainian Academy of Medical Sciences

²Kyryvi Rih Botanical Garden of National Academy of Sciences of Ukraine

³Instytut Nauk o Środowisku Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, Gronostajowa 7, 30-387 Kraków

e-mail: katarzyna.turnau@uj.edu.pl

Współczesne rolnictwo w znacznym stopniu odeszło od tradycyjnego systemu upraw ze względu na potrzebę wyżywienia coraz większej populacji ludzkiej. Powszechne stosowanie nawozów oraz środków ochrony roślin wpływa jednak negatywnie na środowisko, przyczyniając się zancząco do spadku bioróżnorodności oraz dalszej destabilizacji klimatu. Jednocześnie zasoby potrzebne do produkcji nawozów stopniowo się wyczerpują. Co można zrobić w tej sytuacji? Nie ma już dziś wątpliwości że rośliny dotychczas uważane za pojedyncze organizmy nigdy nie występują samotnie. Każda ich część skolonizowana jest przez konsorcja mikroorganizmów, które umiejętnie wykorzystane mają szanse zastąpić nawożenie mineralne, a także wspomóc naszą działalność przy obniżaniu ilości dwutlenku węgla w atmosferze. W naszej prezentacji zostanie omówiona rola symbiotów w uprawie roślin w różnych siedliskach, a także przy zastosowaniu modelu opartego o kultury *in vitro*. Pokazany zostanie też model badawczy interakcji pomiędzy glonami a endofitycznymi grzybami i bakteriami. Model ten pozwolił na ujawnienie nieznanych dotychczas interakcji, których poznanie może pozwolić na opracowanie praktycznych technologii do zastosowania w ochronie środowiska, a także pogłębić obecne zrozumienie symbioz pełniących kluczową rolę w funkcjonowaniu ekosystemów.

Pracę wykonano w ramach projektów Nr 2/2022 oraz 6/2022 finansowanych przez International Society for Plant Pathology, przekazanych przez Polskie Towarzystwo Fitopatologiczne oraz ze środków Uniwersytetu Jagiellońskiego.

The role of endophytes in plant and algae cultivation

Yuliia Korzh¹, Mykola Baranets², Krzysztof Sikorski³, Katarzyna Turnau³

¹Institute of Microbiology and Virology, Kyiv Medical University, Ukrainian Academy of Medical Sciences

²Kryvyi Rih Botanical Garden of National Academy of Sciences of Ukraine

³Institute of Environmental Sciences, Jagiellonian University, Kraków, Gronostajowa 7, 30-387 Kraków

e-mail: katarzyna.turnau@uj.edu.pl

The current widespread use of industrial agriculture has significantly diverged from traditional cultivation practices resulting from a growing human population with increasing food demand. However, the common usage of fertilizers and pesticides associated with industrial agriculture, has a negative impact on the environment, leading to loss of biodiversity, and further destabilizing the climate. What can be done to address this situation? There is no doubt that plants, which used to be considered single organisms, never live in isolation. They are abundantly colonized by microorganism consortia, which, when applied judiciously, may replace mineral fertilization and assist sequestration of atmospheric CO₂. Our presentation will examine the role of symbionts in the cultivation of plants across various habitats, as well as *in vitro* cultures. A research model of interactions between algae and endophytic fungi will be discussed. This model allowed for the discovery of previously unknown interactions, which may lead to designing new practical technologies for environmental protection, and deepen our current understanding of symbioses playing critical roles in ecosystem functioning.

The work was carried out under projects No. 2/2022 and 6/2022 financed by the International Society for Plant Pathology, donated by the Polish Phytopathological Society and from the funds of the Jagiellonian University.

System SPEC: osiemnaście lat monitorowania stężenia zarodników grzybów *Plenodomus lingam* i *P. biglobosus* w Polsce

Joanna Kaczmarek¹, Magdalena Wójcik², Beata Żuraw³, Aneta Sulborska-Różycka⁴, Zbigniew Karolewski⁵, Idalia Kasprzyk², Jarosław Grocholski⁶, Leszek Menzel⁷, Rafał Kowalski⁷, Małgorzata Jędrzycka¹

¹ Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, ul. Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

² Uniwersytet Rzeszowski, Instytut Biologii i Biotechnologii, Katedra Biologii, ul. Pigionia 1, 35-310 Rzeszów

³ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Biologii Środowiskowej, Katedra Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów, ul Akademicka 13, 20-950 Lublin

⁴ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Biologii Środowiskowej; Katedra Botaniki i Fizjologii Roślin, ul Akademicka 13, 20-950 Lublin

⁵ Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Rolnictwa, Ogrodnictwa i Bioinżynierii, ul. Dąbrowskiego 159, 60-594 Poznań

⁶ Przedsiębiorstwo Produkcji Handlu i Usług Arenda sp. z o.o., Charbielin 91, 48-340 Głuchotąży

⁷ Corteva Agriscience Poland Sp. z o.o., ul. Józefa Piusa Dziekońskiego 1, 00-728 Warszawa

e-mail: jkac@igr.poznan.pl

Suchą zgniliznę kapustnych wywołują dwa pokrewne gatunki grzybów: *Plenodomus lingam* i *P. biglobosus*. Gospodarzami tych grzybów jest wiele roślin z rodziny kapustowatych (Brassicaceae), w tym rzepak ozimy i jary. Sucha zgnilizna kapustnych przyczynia się do znacznych strat plonu nasion zarówno w Polsce jak i w Europie, Kanadzie i Australii. Do zainfekowania roślin rzepaku dochodzi głównie jesienią. Na porażonej słomie rzepakowej pozostałej na polu po poprzednim sezonie wegetacyjnym tworzą się pseudotecja – owocniki stadium doskonałego grzybów rodzaju *Plenodomus*, w których powstają askospory. Procesowi dojrzewania owocników sprzyjają opady deszczu. Uwolnione askospory są głównym źródłem porażenia roślin rzepaku. Zarodniki workowe przemieszczają się z wiatrem na duże odległości. Askospory osiadają na roślinach i inicjują infekcję poprzez penetrację tkanek za pośrednictwem aparatów szparkowych i uszkodzeń powstałych mechanicznie lub po działaniu przymrozków bądź szkodników.

Monitorowanie stadium cyklu życiowego patogenów wywołujących suchą zgniliznę kapustnych w Polsce jest istotą Systemu Prognozowania Epidemii Chorób (SPEC), który działa w Polsce nieprzerwanie od 2004 roku. Badania w ramach SPEC prowadzone są co roku od 1 marca do 31 maja (okres wiosenny) oraz od 1 września do 30 listopada (okres jesienny) przy zastosowaniu siedmiodniowych pułapek wolumetrycznych typu Hirsta, które rozmieszczone są w 9 miejscach w Polsce. Średnie stężenie dobowe inokulum obliczono na podstawie liczby zarodników na preparatach mikroskopowych zawierających taśmy celofanowe pokryte lepikiem, do którego przywierają zarodniki wychwycone przez pułapki. Monitoring prowadzony jest w trybie ciągłym, przy czym jeden preparat mikroskopowy odpowiada jednej dobie pracy pułapki. Poza zliczaniem zarodników pod mikroskopem świetlnym określana jest ich przynależność gatunkowa metodą Real-Time PCR.

W ostatnich kilku latach badania wykazały znaczny wzrost ryzyka porażenia rzepaku przez grzyby powodujące suchą zgniliznę kapustnych we wschodniej części Polski, co spowodowane jest szybkim tempem rozwoju patogenów na tym terenie. Objawiało się to wyższym stężeniem askospor, większą liczbą dni z wychwytywanymi z powietrza zarodnikami oraz wcześniejszym rozpoczęciem ich uwalniania. Jesienią rozwój cyklu życiowego *Plenodomus* jest szybki, co jest niezwykle groźne w obliczu zwiększenia arealu uprawy rzepaku w Polsce. Na zachodzie Polski zmienność badanych parametrów była mniej zauważalna.

SPEC system: eighteen years of monitoring spore concentrations of *Plenodomus lingam* and *P. biglobosus* in Poland

Joanna Kaczmarek¹, Magdalena Wójcik², Beata Żuraw³, Aneta Sulborska-Różycka⁴, Zbigniew Karolewski⁵, Idalia Kasprzyk², Jarosław Grocholski⁶, Leszek Menzel⁷, Rafał Kowalski⁷, Małgorzata Jędrzycka¹

¹ Institute of Plant Genetics, Polish Academy of Sciences, Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

² University of Rzeszów, Institute of Biology and Biotechnology, Department of Biology, Pigonia 1, 35-310 Rzeszów

³ University of Life Sciences in Lublin, Faculty of Environmental Biology, Department of Hydrobiology and Protection of Ecosystems, Akademicka 13, 20-950 Lublin

⁴ University of Life Sciences in Lublin, Faculty of Environmental Biology, Department of Botany and Plant Physiology, Akademicka 13, 20-950 Lublin

⁵ University of Life Sciences in Poznań, Faculty of Agriculture, Horticulture and Bioengineering, Dąbrowskiego 159, 60-594 Poznań

⁶ Trade and Service Company Arenda Ltd., Charbielin 91, 48-340 Glucholazy

⁷ Corteva Agriscience Poland Sp. z o.o., ul. Józefa Piusa Dziekonskiego 1, 00-728 Warszawa

e-mail: jkac@igr.poznan.pl

Stem canker is caused by two related species of fungi: *Plenodomus lingam* and *P. biglobosus*. The main hosts for these fungi are plants from the Brassicaceae family, including spring and winter oilseed rape. This disease is responsible for substantial seed yield losses, both in Poland and in Europe, Canada and Australia. Infection of oilseed rape occurs mainly in autumn. On infected rapeseed stubble, remaining in the field after the previous growing season, pseudothecia - perfect stage of fruiting bodies of *Plenodomus* spp. can be formed, in which ascospores are produced. This process is initiated by rainfall. Ascospores can be wind-transmitted over long distances. Ascospores attach to plants and cause infection through the tissue penetration of stomata and tissues damaged mechanically, by insects or by frosts.

Monitoring the biology of pathogens causing stem canker in Poland is the essence of the System for Forecasting Disease Epidemics (SPEC), which has been operating in Poland continuously since 2004. Research done in SPEC system are conducted annually from 1 March to 31 May (spring period) and from 1 September to 30 November (autumn period), using seven-day volumetric spore traps, which are located in 9 places in Poland. The average daily concentration of inoculum was calculated on the basis of the number of spores on microscope slides containing cellophane tapes covered with adhesive substance which spores captured by the traps adhere to. Monitoring is carried out continuously, with one microscope slide corresponding to one day of spore trap operation. Apart from counting spores under a light microscope, ratios between spores of both species is determined by Real-Time PCR.

Over the last years, our studies showed a great increase of stem canker risk in eastern part of Poland, caused by faster development of the pathogens' life cycles. It was manifested by increased ascospore concentrations, higher number of days with spores captured from air and earlier start of their release. This acceleration of *Plenodomus* pathogen development in the autumn season coincides with increased acreage of oilseed rape in the East of Poland. However, in the west of Poland during the studied period the changes in these parameters were less obvious.

***Fusarium proliferatum* jako endofit zasiedlający tkanki pszenicy chlebowej**

Lidia Błaszczuk, Katarzyna Mikołajczak, Sylwia Salamon, Aneta Basińska-Barczak, Julia Grupa

Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, ul. Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

e-mail: lbla@igr.poznan.pl

Pszenica jest jednym z podstawowych źródeł pożywienia dla ludzi, zarówno bezpośrednio, jak i pośrednio w postaci paszy dla zwierząt gospodarskich. Zboże to zajmuje trzecie miejsce pod względem całkowitej wielkości produkcji (FAOSTAT, <http://www.fao.org/faostat/en>). FAOSTAT wskazuje, że globalna ilość pszenicy wyprodukowanej w 2020 roku wyniosła około 765 mln, z czego Polska wyprodukowała ponad 12 mln ton. Jednak ze względu na zmieniający się klimat i związane z tym potencjalne anomalie pogodowe, uprawy pszenicy dotyka zwiększona liczba kombinacji stresów abiotycznych i biotycznych, które stanowią zagrożenie dla produkcji pszenicy. Producenci rolni w strefach umiarkowanych mogą obserwować silne negatywne skutki zmian klimatu przejawiające się zmniejszoną dostępnością wody w okresie wegetacji, częstsze i intensywniejsze upały, które są najbardziej szkodliwe podczas kwitnienia i przyspieszają fenologię, a w rezultacie prowadzą do zmniejszonej wydajności upraw. Ponadto zmiany klimatyczne wpływają na pojawienie się nowych patogenów, które jak dotąd na danych obszarach nie występowały, co stanowi również ważny czynnik ograniczający produkcję pszenicy.

Poznanie mykobioty roślin, zwłaszcza endosfery i zrozumienie złożonych interakcji endofitów z gospodarzem, może doprowadzić do identyfikacji symbiotycznych mikroorganizmów, które można wykorzystać do poprawy odporności roślin pszenicy na stresy biotyczne i abiotyczne. W ramach prac nad mykobiotą endosfery 10 odmian pszenicy pozyskano szczepy z gatunku *Fusarium proliferatum*. Niniejsze badania objęły charakterystykę tych szczepów, analizę ich wpływu na rośliny pszenicy oraz na inne grzyby endofityczne bytujące w tkankach tego zboża. Wykazano, że gatunek *F. proliferatum* jest dominującym w każdej badanej odmianie pszenicy, zasiedla tkanki wewnętrzne wszystkich jej organów i wchodzi w skład podstawowego zespołu grzybów bytujących w endosferze pszenicy. Zaobserwowano, iż gatunek ten przemieszcza się zarówno wertykalnie jak i horyzontalnie pomiędzy endosferą roślin pszenicy. W wyniku inokulacji roślin pszenicy wyizolowanymi szczepami *F. proliferatum* i analiz morfo-fizjologicznych oraz analizy ekspresji genów związanych z reakcjami obronnymi stwierdzono, iż gatunek ten wykazuje właściwości patogeniczne w stosunku do rośliny gospodarza. Natomiast analizy w bi-kulturach ujawniły właściwości antagonistyczne *F. proliferatum* w stosunku do innych grzybów endofitycznych, w tym *Sarocladium* spp., *Nigrospora garlenkoana*, czy *Penicillium olsonii*.

Pracę wykonano w ramach projektu OPUS14, nr 2017/27/B/NZ9/01591, finansowanego przez NCN.

***Fusarium proliferatum* as an endophyte colonizing bread wheat tissues**

Lidia Błaszczyk, Katarzyna Mikołajczak, Sylwia Salamon, Aneta Basińska-Barczak, Julia Grupa

Institute of Plant Genetics PAS, Department of Plants Microbiomics, Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

e-mail: lbla@igr.poznan.pl

Wheat continues to be a key food source for humans, both directly and indirectly as food for livestock. This cereal is ranked third in terms of total production volume (FAOSTAT, <http://www.fao.org/faostat/en>). FAOSTAT indicates that the global amount of wheat produced tons in the crop year 2020 was about 765 million, of which Poland produced over 12 million tons. However, due to the changing climate and the associated potential climatic anomalies, wheat typically encounters an increased number of abiotic and biotic stress combinations, which continually pose threats to wheat production. The agricultural producers in temperate zones can be subject to strong negative impacts of climate change, due to reduced water availability during the growing season, more frequent and intense heat events, which are most damaging during flowering and accelerated phenology and as a result lead to reduced biomass production. Moreover, global warming is causing the emergence of fungal pathogens - a key factor limiting wheat production.

Exploration of fungal endophytes and understanding their complex interactions with the host and pathogens can lead to the identification of symbiotic microorganisms that can be used to improve the resistance of wheat plants to biotic and abiotic stresses. As part of the work on the endosphere mycobiome of 10 wheat cultivars, strains of the *Fusarium proliferatum* species were obtained. This study included the characterization of these strains, the analysis of their influence on wheat plants and on other endophytic fungi inhabiting the tissues of this cereal. It has been shown that the species *F. proliferatum* is the dominant species in all tested wheat cultivars, inhabits the internal tissues of all its organs and is part of the core mycobiome. It has been observed that this species is transferred both vertically and horizontally between the endosphere of wheat plants. As a result of inoculation of wheat plants with isolated *F. proliferatum* and morph-physiological analyzes as well as analysis of gene expression related to plant defense reactions, it was found that this species exhibits pathogenic properties in relation to the host plant. On the other hand, analyzes in bi-cultures revealed antagonistic properties of *F. proliferatum* in relation to other endophytic fungi, including *Sarocladium* spp., *Nigrospora garlenkoana* or *Penicillium olsonii*.

This research was funded by the Polish National Science Centre (project No. projektu 2017/27/B/NZ9/01591).

Dynamika populacji gatunków *Fusarium* zasiedlających ziarno kukurydzy oraz skażenie mykotoksynami fuzaryjnymi na terenie Polski w latach 2016-2018

Elżbieta Czembor¹, Łukasz Stępień², Agnieszka Waśkiewicz³, Seweryn Frasiński¹

¹ Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Radzików, 05-870 Błonie

² Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

³ Katedra Chemii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wojska Polskiego 75, 60-625 Poznań

e-mail: s.frasinski@ihar.edu.pl

Fuzarioza kolb kukurydzy to jedna z najważniejszych chorób zarówno w Polsce jak i w innych regionach świata, ponieważ wpływa nie tylko na ilość ale i na jakość plonu. Dlatego celem realizowanych prac było określenie dynamiki zmian w populacjach grzybów z rodzaju *Fusarium* zasiedlających ziarno kukurydzy w latach 2016-2018. Badania prowadzono uwzględniając również warunki środowiskowe, które wpływają na wzrost i rozwój roślin oraz na skład populacji patogenów. Łącznie do badań wykorzystano 195 próbek ziarna (12 010 ziarniaków), pobranych w zależności od roku z 6-8 odmian w 11-13 lokalizacjach (doświadczenia PDO COBORU). Odmiany wybrano z grup odmian wczesnych, średnio-wczesnych i średnio-późnych. Wyosobnione izolaty identyfikowano molekularnie (markery PCR gatunkowo-specyficzne oraz sekwencjonowanie czynnika *tef-1α*), a w próbkach mąki określono zawartość mykotoksyn (technika HPLC/PDA/FLD, z użyciem standardów deoksyniwalenolu, zearalenonu, fumonizyny B₁ i bowerycyny).

Najwyższy procent zasiedlenia stwierdzono w roku 2016 (19,9%), a najniższy w 2018 (5,4%), w każdym roku frekwencja *F. verticillioides* była najwyższa (45,0% w 2018, 45,9% w 2017 oraz 65,6% w 2016). W 2016 roku udział *F. temperatum* wynosił 4,5% w roku 2016, 15,9% w roku 2017 oraz 15,0% w roku 2018. Bardzo duże różnice stwierdzono we frekwencjach *F. subglutinans* oraz *F. proliferatum*. Zasiedlenie ziarna przez *F. subglutinans* wynosiło w 2016 roku 10,7%, w 2017 0,0% oraz w 2018 8,0%. Frekwencja *F. proliferatum* wyniosła 1,1% w roku 2016, 17,8% w 2017 i 26% w 2018. Z kolei *F. graminearum* stwierdzono w roku 2016 w 15,0% prób, 10,77% w roku 2017 oraz 4,0% w roku 2018.

Bardzo duże zróżnicowanie pomiędzy latami i lokalizacjami stwierdzono również dla poziomu skażenia próbek ziarna toksynami fuzaryjnymi. Zakresy stopnia skażenia DON w 2016 roku wynosiły 254,0-2714,0 µg/kg, w 2017 219,0-1881,0 µg/kg, a w 2018 254,0-2714,3 µg/kg. Zawartości fumonizyn w 2016: średnia 268 µg/kg (zakres 31,4-1587,9), 2017 średnia 1207,5 µg/kg (zakres 15,8-6760,0), 2018 średnia 327,8 µg/kg (zakres 10,2-72,4, a w jednej z lokalizacji 3666,0 µg/kg). Średnia zawartość zearalenonu w 2016 wyniosła 268,1 µg/kg (zakres 37,6-736,3, a w jednej lokalizacji 1587,9), w 2017 średnia 202 µg/kg (zakres 84,2-385,2), w 2018 średnia 121 µg/kg (zakres 69,5-195,0). Frekwencja grzybów korelowała z warunkami atmosferycznymi (głęboka susza w roku 2018 w przeciwieństwie do roku 2016), natomiast nie stwierdzono tej zależności dla zawartości toksyn.

Prace były finansowane w ramach Programu Wieloletniego IHAR — PIB „Tworzenie naukowych podstaw postępu biologicznego i ochrona roślinnych zasobów genowych źródłem innowacji wsparcia zrównoważonego rolnictwa oraz bezpieczeństwa żywnościowego kraju”, 2015–2020

Dynamics of *Fusarium* populations isolated from maize in Poland during 2016-2018 period and grain contamination with mycotoxins

Elżbieta Czembor¹, Łukasz Stępień², Agnieszka Waśkiewicz³, Seweryn Frasiński¹

¹Institute of Plant Breeding and Acclimatization – NRI, Radzików, 05-870 Błonie

²Institute of Plant Genetics, Polish Academy of Sciences, Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

³Department of Chemistry, Poznań University of Life Sciences, Wojska Polskiego 75, 60-625 Poznań

e-mail: s.frasinski@ihar.edu.pl

Ear rots caused by *Fusarium* spp. are among the most important diseases of maize, affecting yield and quality of grain, mainly because of the contamination of grain with mycotoxins produced by these fungi. Therefore, the main goal of this study was to evaluate the naturally occurring *Fusarium* species and associated mycotoxins in grain samples collected from maize hybrids commonly grown in different regions of Poland during 2016-2018, and to identify the environmental factors affecting the species frequency shifts in the populations of these pathogens. We analysed 195 grain samples (12 010 kernels), collected from 6-8 cultivars in 11-13 localities (COBORU PDO experiments). The cultivars were from early, medium-early and medium-late groups. Isolates were identified using molecular techniques (species-specific PCR markers and *tef-1α* sequencing, and mycotoxins were quantified in flour made from maize grains (HPLC/PDA/FLD with deoxynivalenol, zearalenone, fumonisin B₁ and beauvericin standards).

The highest *Fusarium* frequency was recorded for 2016 (19,9%) and the lowest for 2018 (5,4%), each year *F. verticillioides* was the most frequent (45,0% in 2018, 45,9% in 2017 and 65,6% in 2016). In 2016 *F. temperatum* was found in 4,5% of samples, in 2017 it was 15,9% and 15,0% in 2018. Considerable differences were observed for *F. subglutinans* and *F. proliferatum*. Frequency of *F. subglutinans* was 10,7% in 2016, 0,0% in 2017 and 8,0% in 2018. The frequency of *F. proliferatum* was 1,1% in 2016, 17,8% in 2017 and 26% in 2018. *F. graminearum* was isolated in 2016 from 15,0% of samples, in 2017 it was 10,77% and in 2018 – 4,0%.

Very high diversity was observed between years and localities when mycotoxin contents were compared. DON content in 2016 ranged between 254,0-2714,0 µg/kg, in 2017 219,0-1881,0 µg/kg, and in 2018 254,0-2714,3 µg/kg. Fumonisin concentrations, respectively, were as follows: average for 2016 268 µg/kg (31,4-1587,9), for 2017 the average was 1207,5 µg/kg (15,8-6760,0) and for 2018 the average 327,8 µg/kg (10,2-72,4, top value for a single location 3666,0 µg/kg). Mean zearalenone content in 2016 was 268,1 µg/kg (37,6-736,3, top value for one locality 1587,9), in 2017 it was 202 µg/kg (84,2-385,2) and in 2018 the average was 121 µg/kg (69,5-195,0). The species frequency correlated with weather conditions (severe drought in 2018 and not in 2016). This correlation was not seen for mycotoxin contents.

This research was funded upon Multi-year programme of IHAR-PIB „Creation of scientific basis for biological progres and protection of plant genetic resources as innovation suport of sustainable agriculture and national safety”, 2015–2020

Zróżnicowanie molekularne gatunków kompleksu *Fusarium fujikuroi* powodujących fuzariozę kolb kukurydzy

Emilia Jabłońska¹, Krzysztof Piątek¹, Marcin Wit¹, Ewa Mirzwa-Mróż¹, Wojciech Wakuliński¹

¹ Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Instytut Nauk Ogrodniczych, Katedra Ochrony Roślin, Zakład Fitopatologii, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

e-mail: emilia_jablonska@sggw.edu.pl

Etiologię fuzariozy kolb kukurydzy determinują w dużej mierze warunki środowiska występujące podczas uprawy tej rośliny. W typowym dla Polski klimacie umiarkowanym dominującą formą tej choroby jest tzw. różowa zgnilizna kolb (ang. *pink ear rot*) powodowana przez gatunki kompleksu *Fusarium fujikuroi* Nirenberg (*Fusarium fujikuroi* species complex, FFSC).

Celem przeprowadzonych badań była ocena zróżnicowania genetycznego populacji FFSC uzyskanej z porażonych kolb kukurydzy. Ocenę tę przeprowadzono na podstawie sekwencji nukleotydowych genów locus MAT oraz za pomocą techniki losowej amplifikacji polimorficznego DNA, RAPD (ang. *Random Amplified Polimorphic DNA*) opartej na łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR). W badaniach zastosowano 17 starterów RAPD. Efektywność zastosowanej techniki RAPD oceniono wyliczając m.in. współczynnik informacji o polimorfizmie, Marker Index oraz zdolność rozdzielczą starterów.

W toku prowadzonych badań z porażonych kolb kukurydzy uzyskano izolaty trzech gatunków kompleksu *Fusarium fujikuroi*: *F. verticillioides*, *F. subglutinans* sensu stricto oraz *F. temperatum*.

W profilach amplifikacyjnych RAPD obserwowano duży udział prążków polimorficznych (46,1%). Zróżnicowanie genetyczne w obrębie całej przebadanej populacji *Fusarium* spp. kształtowało się na dość wysokim poziomie, na co wskazują wartości różnorodności genowej (0,303) i indeksu Shannon-Weaver'a (0,463). Największe zróżnicowanie odnotowano w obrębie populacji izolatów *F. verticillioides* (różnorodność genowa - 0,180), zaś najmniejszą zmiennością charakteryzowały się izolaty *F. subglutinans* sensu stricto (różnorodność genowa - 0,098).

Określono także sekwencje nukleotydowe trzech genów idiomorfy MAT1-1 (MAT1-1-1, MAT1-1-2 i MAT1-1-3) i dwóch genów idiomorfy MAT1-2 (MAT1-2-1, MAT1-2-3) badanych izolatów *Fusarium* spp. Na tle sekwencji regionów genomu powszechnie stosowanych w diagnostyce grzybów, geny locus MAT odznaczają się bardzo wysokim zróżnicowaniem nukleotydowym. Spośród trzech badanych gatunków najwyższe zróżnicowanie sekwencji wszystkich genów MAT odnotowano u izolatów gatunku *F. verticillioides*. Geny idiomorfy MAT1-1 wyróżniał wyższy niż w przypadku genów idiomorfy MAT1-2 polimorfizm sekwencji, przy czym sekwencje niekodujące genów locus MAT charakteryzowały się wyższym poziomem zróżnicowania nukleotydowego niż sekwencje kodujące.

Molecular diversity of the *Fusarium fujikuroi* species complex associated with ear rot of maize

Emilia Jabłońska¹, Krzysztof Piątek¹, Marcin Wit¹, Ewa Mirzwa-Mróż¹, Wojciech Wakuliński¹

¹Warsaw University of Life Sciences, Institute Of Horticultural Sciences, Department of Plant Protection, Division of Plant Pathology, 159 Nowoursynowska Str., 02-776 Warsaw

e-mail: emilia_jablonska@sggw.edu.pl

The etiology of *Fusarium* ear rot is largely determined by the environmental conditions that occur during maize cultivation. In the temperate climate, typical of Poland, the dominant type of this disease is the so-called pink ear rot caused by *Fusarium fujikuroi* species complex (FFSC).

The purpose of the study was to assess the genetic diversity in the FFSC population obtained from infected corn cobs. For this purpose the analysis of the nucleotide sequences of the MAT locus genes and the Random Amplified Polimorphic DNA (RAPD) technique were used. Seventeen selected RAPD primers were used in the study. Several indexes, such as polymorphism information content, the Marker Index, the resolving power of the primers and others, were used to assess the effectiveness of the RAPD technique.

In the study, isolates of the three species of the *Fusarium fujikuroi* complex were obtained from infected corn cobs: *F. verticillioides*, *F. subglutinans* sensu stricto and *F. temperatum*.

A large proportion of polymorphic bands (46.1%) was observed in the RAPD amplification profiles. As evidenced by the values of gene diversity (0.303) and the Shannon-Weaver index (0.463), the genetic diversity within the analysed *Fusarium* spp. strains is at a fairly high level. *Fusarium verticillioides* was the most heterogenous species (genetic diversity - 0.180), while the least heterogenous one was *F. subglutinans* sensu stricto (genetic diversity - 0.098).

The nucleotide sequences of the three MAT1-1 idiomorph genes (MAT1-1-1, MAT1-1-2 and MAT1-1-3) and the two MAT1-2 idiomorph genes (MAT1-2-1, MAT1-2-3) were determined as well. In contrast to the sequences of the most commonly used genomic markers for *fungi*, the MAT locus genes are characterized by a very high nucleotide diversity. Among the three studied species, the highest sequence diversity of all MAT genes was noted in the *F. verticillioides* strains. The genes of the MAT1-1 idiomorph were distinguished by higher sequence polymorphism than in the case of the MAT1-2 idiomorphs, with the non-coding sequences of the MAT locus genes characterized by a higher level of nucleotide diversity than the coding sequences.

Interakcja mykopasożytniczego szczepu *Trichoderma koningiopsis* i fitopatogenicznego szczepu *Fusarium culmorum* w obecności metali ciężkich (Cd, Pb, Zn)

Jolanta Jaroszuk-Ścisiel¹, Artur Nowak¹, Renata Tyśkiewicz², Ewa Kowalska¹, Wiktoria Portka¹

¹ Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

² Sieć Badawcza Łukasiewicz, Instytut Nowych Syntez Chemicznych w Puławach, Laboratorium Analityczne, Al. Tysiąclecia Państwa Polskiego 13a, 24-110 Puławy

e-mail: jolanta.jaroszuk-scisel@mail.umcs.pl

Zbadano tempo wzrostu fitopatogenicznego szczepu *Fusarium culmorum* Fc37 [1] i mykopasożytniczego szczepu *Trichoderma koningiopsis* TkZ3A0 [2, 3] w obecności metali ciężkich (Cd, Pb lub Zn) w stężeniach 2, 4, 6, 8, 10 µg/mL w podłożu stałym RB (Ryes i Byrde) z glukozą i sacharozą jako źródłem C, w trzech temperaturach (12, 20, 28°C) inkubacji oraz wzajemne oddziaływanie tych szczepów przy stężeniu 2 µg/mL metalu w podłożach: PDA, Martina i RB z 1% sacharozą. W płynach po hodowli mykopasożyta na podłożu RB z 2 µg/mL metali w stężeniu egzopolimerów [4], związków fenolowych oraz chelatorów metali, w tym sideroforów hydroksamowych, było wyższe niż w hodowlach fitopatogena i zależne od źródła C (glukoza, sacharoza, chityna) oraz wieku (5., 7., 12. i 14. dzień) i temperatury hodowli. Metale silniej ograniczały tempo wzrostu fitopatogena niż mykopasożyta a biomasa fitopatogena w obecności metali, szczególnie Cd i Pb, była znacznie niższą niż biomasa Tk3ZA0, który najlepiej adoptował się do obecności metali w 20°C. Efekt hamowania wzrostu fitopatogena przez mykopasożyta w obecności jonów metali ciężkich (Zn, Pb, Cd) był w 50% przypadków silniejszy, a nigdy słabszy, niż w wersji kontrolnej bez jonów metalu, a najsilniejszy w obecności jonów kadmu oraz w temperaturze 20°C. Mykopasożytniczy szczep *T. koningiopsis* intensywniej niż patogen rosnący i wytwarzający EPS i inne metabolity kompleksujące oraz silnie hamujący wzrost fitopatogena w obecności metali ciężkich może być składnikiem biopreparatów ochrony roślin uprawianych na terenach skażonych metalami ciężkimi wzmacniającym jednocześnie proces fitoremediacji.

Pracę wykonano w ramach badań sfinansowanych z subwencji statutowej UMCS

Literatura

1. Jaroszuk-Ścisiel J, Kurek E, Winiarczyk K, Baturo A, Łukanowski A (2008) Colonization of root tissues and protection against *Fusarium* wilt of rye (*Secale cereale*) by nonpathogenic rhizosphere strains of *Fusarium culmorum*. *Biol Control* 45: 297–307.
2. Jaroszuk-Ścisiel J, Nowak A, Komanińska I, Choma A, Jarosz-Wilkołazka A, Osińska-Jaroszuk M, Tyśkiewicz R, Wiater A, Rogalski J (2020) Differences in production, composition, and antioxidant activities of exopolymeric substances (EPS) obtained from cultures of endophytic *Fusarium culmorum* strains with different effects on cereals. *Molecules* 25: 616–649.
3. Jaroszuk-Ścisiel J, Tyśkiewicz R, Nowak A, Ozimek E, Majewska M, Hanaka A, Tyśkiewicz K, Pawlik A, Janusz G (2019) Phytohormones (auxin, gibberellin) and ACC deaminase *in vitro* synthesized by the mycoparasitic *Trichoderma* DEMTkZ3A0 strain and changes in the level of auxin and plant resistance markers in wheat seedlings inoculated with this strain conidia. *Int J Mol Sci* 20: 4923–4958.
4. Tyśkiewicz R, Nowak A, Ozimek E, Jaroszuk-Ścisiel J. (2022) *Trichoderma*: The current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. *Int J Mol Sci* 23: 2329–2357.

Interaction of a mycoparasitic *Trichoderma koningiopsis* strain and a phytopathogenic *Fusarium culmorum* strain in the presence of heavy metals (Cd, Pb, Zn)

Jolanta Jaroszuk-Ścisiel¹, Artur Nowak¹, Renata Tyśkiewicz², Ewa Kowalska¹, Wiktoria Portka¹

¹ Maria Curie–Skłodowska University in Lublin, Institute of Biological Sciences, Department of Industrial and Environmental Microbiology, Akademicka 19, 20-033 Lublin, Poland

² Analytical Laboratory, Łukasiewicz Research Network—New Chemical Syntheses Institute, Al. Tysiąclecia Państwa Polskiego 13a, 24-110 Puławy, Poland

e-mail: jolanta.jaroszuk-scisel@mail.umcs.pl

The growth rate of phytopathogenic *Fusarium culmorum* Fc37 [1] and mycoparasitic *Trichoderma koningiopsis* TkZ3A0 strain [2, 3] in the presence of heavy metals (Cd, Pb, or Zn) at concentrations of 2, 4, 6, 8, and 10 µg/mL in a solid medium RB (Ryes and Byrde) with glucose and sucrose as a source of C, at three incubation temperatures (12, 20, 28°C) and the interaction of these strains at a concentration of 2 µg/mL of the metal in PDA, Martin, and RB with 1% sucrose were investigated. In the mycoparasite culture fluids on the RB medium with 2 µg/mL of the metal, the concentration of exopolymers [4], phenolic compounds, and metal chelators, including hydroxamate siderophores, was higher than in the phytopathogen cultures and dependent on the source of C (glucose, sucrose, chitin), culture age (day 5, 7, 12, and 14), and temperature. The metals limited the growth rate of the phytopathogen more strongly than the mycoparasite, and the phytopathogen biomass in the presence of the metals, especially Cd and Pb, was much lower than the biomass of Tk3ZAg0, which was best adapted to the presence of the metals at 20°. The mycoparasitic *T. koningiopsis* strain, which grows more intensively than the phytopathogen, produces EPS and other complexing metabolites, and strongly inhibits the growth of the phytopathogen in the presence of heavy metals, may be a component of biopreparations for protection of plants grown in heavy metal-contaminated areas and may simultaneously strengthen the phytoremediation process.

This research was funded by the UMCS statutory subsidy

References

1. Jaroszuk-Ścisiel J, Kurek E, Winiarczyk K, Batur A, Łukanowski A (2008) Colonization of root tissues and protection against *Fusarium* wilt of rye (*Secale cereale*) by nonpathogenic rhizosphere strains of *Fusarium culmorum*. *Biol Control* 45: 297–307.
2. Jaroszuk-Ścisiel J, Tyśkiewicz R, Nowak A, Ozimek E, Majewska M, Hanaka A, Tyśkiewicz K, Pawlik A, Janusz G (2019) Phytohormones (auxin, gibberellin) and ACC deaminase *in vitro* synthesized by the mycoparasitic *Trichoderma* DEMTkZ3A0 strain and changes in the level of auxin and plant resistance markers in wheat seedlings inoculated with this strain conidia. *Int J Mol Sci* 20: 4923–4958.
3. Tyśkiewicz R, Nowak A, Ozimek E, Jaroszuk-Ścisiel J. (2022) *Trichoderma*: The current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. *Int J Mol Sci* 23: 2329–2357.
4. Jaroszuk-Ścisiel J, Nowak A, Komaniecka I, Choma A, Jarosz-Wilkołazka A, Osińska-Jaroszuk M, Tyśkiewicz R, Wiater A, Rogalski J (2020) Differences in production, composition, and antioxidant activities of exopolymeric substances (EPS) obtained from cultures of endophytic *Fusarium culmorum* strains with different effects on cereals. *Molecules* 25: 616–649.

Modyfikacje procesu infekcyjnego *Fusarium graminearum* przez drożdże

Urszula Wachowska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Katedra Entomologii, Fitopatologii i Diagnostyki Molekularnej,
ul. Prawocheńskiego 17, 10-720 Olsztyn

e-mail: urszula.wachowska@uwm.edu.pl

Drożdże *Aureobasidium pullulans* i *Debaryomyces hansenii* zasiedlają ziarno pszenicy stanowiąc niewielki odsetek mykobiomu ziarna i kłosów. Dodatkowa aplikacja na kłosa wyselekcjonowanych, antagonistycznych wobec *Fusarium graminearum* izolatów tych gatunków może stanowić uzupełnienie metod chemicznych. Aplikacja drożdży na kłosa często spowalnia proces infekcyjny patogenu, ale natura tego zjawiska jest słabo poznana. Celem badań była analiza mechanizmu modyfikacji procesu infekcyjnego *F. graminearum* przez drożdże. Badania prowadzono w warunkach polowych, szklarniowych i in vitro. Analizowano rozwój drożdży na kłosach pszenicy twardej inokulowanej *F. graminearum*, oceniono także ich wpływ na transkryptom patogenu.

Integrowane stosowanie fungicydów i zabiegów biologicznych w warunkach polowych ograniczało zawartość deoksyniwalenu (DON) w ziarnie. W ziarnie chronionym biologicznie zawieszoną izolatu *D. hansenii* nie stwierdzono obecności DON, a zawartość kulmoryny (CULM) była 38-krotnie mniejsza niż w ziarnie niechronionym. Zastosowanie drożdży znacząco ograniczało także koncentrację moniliforminy (MON) i eniatyn (ENNs). Komórki drożdży ulegały adhezji do powierzchni tkanki rośliny żywicielskiej i strzępek patogenu, a po licznych podziałach tworzyły agregaty lub biofilm zanurzony w pozakomórkowym matriksie. Drożdże ograniczały nasilenie fuzariozy kłosów, redukowały także liczbę jednostek operacyjnych *F. graminearum* (OTUs). In vitro drożdże ograniczały rozwój kolonii *F. graminearum* konkurując o przestrzeń i pokarm. Zastosowanie biologicznej ochrony nie miało wpływu na metabolizm wtórnych metabolitów – trichotecenów w nekrotroficznym etapie infekcji *F. graminearum*. Drożdże modyfikowały za to globalne czynniki transkrypcyjne, z uwagi na złożoność procesów związanych z translacją i potranslacyjnym dojrzewaniem białek nie można wykluczyć późniejszych wtórnych zmian w procesach metabolicznych patogenu. Antagonistyczne drożdże mogą być rekomendowane do stosowania z fungicydami w systemie integrowanym do zwalczania fuzariozy kłosów.

Yeasts modify the *Fusarium graminearum* infection process in grain

Urszula Wachowska

University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Department of Entomology, Phytopathology and Molecular Diagnostics, Prawocheńskiego 17, 10-720 Olsztyn

e-mail: urszula.wachowska@uwm.edu.pl

Aureobasidium pullulans and *Debaryomyces hansenii* yeasts colonize wheat grain and account for a small percentage of grain and spike mycobiota. The application of selected *A. pullulans* and *D. hansenii* isolates with antagonistic effects against *Fusarium graminearum* to spikes can complement chemical control methods. When applied to spikes, yeasts often slow down the infection process, but their mode of action remains insufficiently investigated. The aim of this study was to analyze the mechanism of action underlying yeasts' ability to modify the *F. graminearum* infection process in grain. The study involved field, greenhouse and *in vitro* experiments. The development of yeasts was analyzed on durum wheat spikes inoculated with *F. graminearum*, and the effect of yeast isolates on the pathogen's transcriptome was also evaluated.

Under field conditions, integrated fungicide and biological treatments decreased the deoxynivalenol (DON) content of grain. Grain protected with the *D. hansenii* suspension was free of DON, and the concentration of culmorin (CULM) was 38 times lower than in unprotected grain. Yeasts also considerably decreased the concentrations of moniliformin (MON) and enniatin (ENN) in grain. Yeast cells adhered to the surface of host plant tissues and fungal hyphae, where they multiplied and formed aggregates or biofilm embedded in the extracellular matrix. Yeasts decreased the severity of Fusarium head blight (FHB) and reduced the number of operational taxonomic units (OTUs) of *F. graminearum*. Under *in vitro* conditions, yeasts inhibited the development of *F. graminearum* colonies by competing for space and food. The applied biological treatment had no effect on the metabolism of trichothecenes (secondary metabolites) in the necrotrophic stage of *F. graminearum* infection. However, yeasts modified global transcription factors, and further secondary changes in the pathogen's metabolism cannot be ruled out due to the complexity of translational processes and post-translational modification of proteins. Antagonistic yeasts applied in combination with fungicides can be recommended for the integrated management of FHB.

Zróżnicowanie genetyczne satelitarnych RNA wirusa czarnej pierścieniowej plamistości pomidora i ich wpływ na akumulację wirusa w roślinach

Beata Hasiów-Jaroszewska¹, Julia Minicka¹, Agnieszka Taberska¹, Aleksandra Zarzyńska-Nowak¹, Katarzyna Kubska¹, Daria Budzyńska¹, Santiago F. Elena^{2,3}

¹Instytut Ochrony Roślin-PIB, Zakład Wirusologii i Bakteriologii, ul Wł. Węgorka 20, Poznań

²Consejo Superior de Investigaciones Científicas - Universitat de València, Instituto de Biología Integrativa de Sistemas, Walencja, Hiszpania

³The Santa Fe Institute, Santa Fe, NM, USA.

e-mail: B.Hasiow@iorpib.poznan.pl

Wirus czarnej pierścieniowej plamistości pomidora (*Tomato black ring virus*, TBRV) poraża szeroki zakres roślin, w tym wiele gatunków gospodarczo ważnych. Genom wirusa zbudowany jest z dwóch pojedynczych nici RNA o dodatniej polarności (+ssRNA). Dodatkowo mogą występować subgenomowe cząsteczki RNA, w tym satelitarne RNA (satRNA). Większość satRNA nepowirusów posiada VPg na końcu 5' oraz ogon poli(A) na końcu 3'. Satelitarne RNA TBRV zawiera ~1374 nt i koduje białko o masie 48kD. Obecność satRNA może wpływać na symptomy obserwowane na porażonych roślinach oraz replikację wirusa. Celem niniejszej pracy była analiza zróżnicowania genetycznego satRNA TBRV oraz ich wpływu na akumulację wirusa w roślinach.

Do badań wybrano 41 izolatów pochodzących z różnych gospodarzy i regionów Polski. SatRNA amplifikowano z wykorzystaniem odpowiednich starterów w reakcji RT-PCR, klonowano molekularnie i sekwencjonowano. Otrzymane sekwencje analizowano pod kątem zjawiska rekombinacji z wykorzystaniem programów RDP4 i SplitsTree. Presja selekcyjna została określona na podstawie stosunków substytucji niesynonimicznych do synonimicznych (dN/dS) w analizowanych sekwencjach satRNA przy użyciu serwera Datamonkey. Relacje filogenetyczne w populacji satRNA analizowano z wykorzystaniem programu MEGAX. Wpływ satRNA na objawy chorobowe i akumulację wirusa analizowano z wykorzystaniem trzech izolatów: TBRV-K8, TBRV-MJ i TBRV-Pi oraz *Chenopodium quinoa*, *Nicotiana tabacum* oraz *Spinacia oleracea*. Akumulację RNA badano po 7, 14, 21 oraz 28 dniach od inokulacji (dpi) za pomocą reakcji RT-qPCR (LightCycler96, Roche). Otrzymane dane analizowano statystycznie z wykorzystaniem programu SPSS (IBM, USA).

Spośród badanych izolatów obecność satRNA stwierdzono dla 18 izolatów TBRV. Analizy sekwencji wykazały wysoki stopień zróżnicowania genetycznego satRNA, które wyniosło od 91,1% do 100% dla sekwencji nukleotydów i od 89,4% do 100% dla sekwencji aminokwasów. W badanej populacji nie stwierdzono obecności zrekombinowanych wariantów. Wykazano działanie presji oczyszczającej co świadczy o usuwaniu niekorzystnych mutacji z populacji. Analiza filogenetyczna wykazała tendencję niektórych satRNA do wspólnego grupowania. Nie stwierdzono jednak wyraźnej korelacji pomiędzy zróżnicowaniem genetycznym satRNA, gospodarzem i miejscem pochodzenia, co wymaga dalszych analiz z wykorzystaniem większej ilości sekwencji. Zaobserwowano, że rośliny szpinaku i komosy zainfekowane izolatem TBRV + satRNA wykazują silniejsze objawy chorobowe w porównaniu do tych zainfekowanych tylko TBRV. Podsumowując, wykazano, że obecność satelitarnych cząsteczek RNA ma istotny wpływ na akumulację TBRV zależny od kombinacji izolatu i rośliny gospodarza.

Pracę wykonano w ramach projektu OPUS 2017/25/B/NZ9/01715 z Narodowego Centrum Nauki.

Genetic variability of tomato black ring virus satellite RNAs and their impact on virus accumulation in plants

Beata Hasiów-Jaroszewska¹, Julia Minicka¹, Agnieszka Taberska¹, Aleksandra Zarzyńska-Nowak¹, Katarzyna Kubska¹, Daria Budzyńska¹, Santiago F. Elena^{2,3}

¹Institute of Plant Protection-NRI, Department of Virology and Bacteriology, ul. Wł. Węgorka 20, 60-318 Poznań, Poland

²Consejo Superior de Investigaciones Científicas-Universitat de València, Instituto de Biología Integrativa de Sistemas, Valencia, Spain

³The Santa Fe Institute, Santa Fe, NM, USA

e-mail: B.Hasiow@iorpib.poznan.pl

Tomato black ring nepovirus infects a wide range of plant including many economically important species. Its genome consists of two single-stranded positive-sense RNAs. Additional subgenomic RNAs including satellite RNAs (satRNAs) have also been described. The majority of nepoviruses satRNA have a VPg at the 5' end and a polyA tail at the 3' end. TBRV satRNAs consist of a single-stranded RNA of about 1374 nt that encodes a protein of 48 kDa which probably affects the activity of the viral replicase. The presence of satRNAs might have great impact on symptoms development and virus replication. The goal of this study was to analyze the genetic diversity of TBRV satRNAs and their impact on virus accumulation in plants.

Forty-one TBRV isolates originated from different hosts and regions of Poland were selected for the study. SatRNAs were amplified with appropriate primers by RT-PCR, molecularly cloned and sequenced. The obtained sequences were analysed for occurrence of recombination using RDP4 and SplitsTree programs. The selective pressure acting on particular codons was evaluated based on the ratio of non-synonymous (d_N) to synonymous (d_S) nucleic acid changes using four different approaches implemented in the Datamonkey server. Phylogenetic relationships were established using MEGA X. The impact of satRNAs on symptoms and virus accumulation was analysed for TBRV-K8, TBRV-MJ and TBRV-Pi isolates in *Chenopodium quinoa*, *Nicotiana tabacum* and *Spinacia oleracea*. RNA accumulation was established 7, 14, 21 and 28 days post inoculation using RT-qPCR (LightCycler96, Roche). The obtained data was analysed statistically using SPSS software (IBM, USA)

The presence of satRNA was confirmed in 18 out of 41 tested TBRV isolates. Sequence analyses showed a high level of genetic variability, ranging from 91.1% to 100% for the nucleotide and 89.4% to 100% for amino acid sequences, respectively. No recombinant variants were found. Pervasive purifying selection on satRNAs and removing deleterious variations has been found. Phylogenetic analysis showed significant clustering of satRNAs. However, no clear correlation was found between the genetic variation of satRNA, the host species and the site of origin, which requires further analysis using a larger data set. *S. oleracea* and *C. quinoa* plants infected with TBRV + satRNA showed more severe symptoms, in comparison to those infected only with TBRV, regardless of the viral isolate. In conclusion, the presence of satRNAs significantly impacts TBRV accumulation in an isolate and host plant dependent manner.

This research was funded by the Polish National Science Centre (project No. 2017/25/B/NZ9/01715).

Wykorzystanie nowoczesnych metod biologii molekularnej do określenia patogeniczności torradowirusów

Przemysław Wieczorek, Marta Budziszewska, Barbara Wrzesińska, Arnika Przybylska, Patryk Frąckowiak, Aleksandra Obrępańska-Stęplowska

Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Biologii Molekularnej i Biotechnologii, ul. W. Węgorzka 20, 60-318 Poznań

e-mail: p.wieczorek@iorpib.poznan.pl

Torradowirusy (rodzaj *Torradovirus*, rodzina *Secoviridae*) to grupa patogenów, które porażają rośliny z rodziny *Apiaceae*, *Astraceae*, *Cucurbitaceae*, *Euphorbiaceae*, *Lamiaceae*, *Fabaceae*. Z uwagi na szeroki zakres gospodarzy oraz na identyfikowane nowe przypadki porażań wywoływanych przez tę grupę wirusów, istotne jest prowadzenie badań nad zmiennością genetyczną oraz ustaleniem ich determinant patogeniczności. Typowymi przedstawicielami rodzaju są przenoszone przez mączliki: wirus nekrozy pomidora – *Tomato torrado virus*, ToTV, oraz *Tomato marchitez virus* (ToMarV), które porażają *Solanum lycopersicum* L. (*Solanaceae*). Określając zmienność genetyczną ToTV oraz innych torradowirusów opracowano czułe testy diagnostyczne, które wykorzystano do identyfikacji tych patogenów w roślinach. Istotnym osiągnięciem w badaniach biologii molekularnej torradowirusów było skonstruowanie klonów infekcyjnych ToTV oraz ToMarV. W tym zakresie kopie RNA1 oraz RNA2 tych wirusów umieszczano pod kontrolą promotora 35S CaMV w ekspresyjnym wektorze binarnym pJL89. Procedurę tworzenia plazmidów rekombinowanych wykonano w oparciu o klonowanie metodą Gibsona (*Gibson Assembly*) [1]. Co więcej, istotnym osiągnięciem w zakresie badań patogeniczności torradowirusów było skonstruowanie wariantu RNA2 ToTV z wprowadzoną sekwencją genu kodującego białko zielonej fluorescencji – GFP. Uzyskany wirus rekombinowany, ToTV-GFP, wykorzystano do przyżyciowego monitorowania przebiegu procesu infekcji w roślinie [2]. Wykorzystując infekcyjny klon ToTV określono m.in. zaangażowanie białka 3A wirusa w różnicowym porażaniu pomidora i tytoniu (*Nicotiana benthamiana*) [3].

Przeprowadzone doświadczenia poszerzyły zakres metod badawczych oraz wiedzę z obszaru mechanizmów molekularnych determinujących chorobotwórczość torradowirusów.

Prace prowadzono w ramach projektu NCN nr 2016/21/D/NZ9/02478

Literatura

1. Gibson DG, Young L, Chuang RY, Venter JC, Hutchison CA 3rd, Smith HO (2009) Enzymatic assembly of DNA molecules up to several hundred kilobases. *Nat Methods* 6(5): 343-5.
2. Wieczorek P, Budziszewska M, Frąckowiak P, Obrępańska-Stęplowska A (2020) Development of a new tomato torrado virus-based vector tagged with GFP for monitoring virus movement in plants. *Viruses* 12(10): 1195.
3. Wieczorek P, Obrępańska-Stęplowska A (2016) A single amino acid substitution in movement protein of tomato torrado virus influences ToTV infectivity in *Solanum lycopersicum*. *Virus Res* 213: 32-36.

Utilizing molecular biology techniques to identify the pathogenicity of torradoviruses

Przemysław Wieczorek, Marta Budziszewska, Barbara Wrzesińska, Arnika Przybylska, Patryk Frąckowiak, Aleksandra Obrępańska-Stęplowska

Institute of Plant Protection – National Research Institute, Department of Molecular Biology and Biotechnology, W. Wegorka 20, 60-318 Poznan

e-mail: p.wieczorek@iorpib.poznan.pl

Torradoviruses (genus *Torradovirus*, family *Secoviridae*) are a group of pathogens that infect plants of the Apiaceae, Asteraceae, Cucurbitaceae, Euphorbiaceae, Lamiaceae, and Fabaceae families. Due to the wide range of hosts and the identification of new cases of infections caused by this group of viruses, it is important to conduct research focusing on their genetic variability and to establish their pathogenicity determinants. Typical members of the genus are the tomato torrado virus (ToTV) and tomato marchitez virus (ToMarV) transmitted by whiteflies, which infects *Solanum lycopersicum* L. (*Solanaceae*). By determining the genetic variability of ToTV, and other torradoviruses, it was possible to develop sensitive diagnostic protocols to identify these pathogens in plants. The construction of ToTV and ToMarV infectious clones was an important achievement in the study of the molecular biology of torradoviruses. In this regard, RNA1 and RNA2 copies of these viruses were placed under the control of the CaMV 35S promoter in the expression binary vector pJL89. The procedure for creating recombinant plasmids was performed based on the Gibson assembly method [1]. Moreover, the construction of the RNA2 ToTV variant with the introduced sequence of the gene encoding the green fluorescence protein – GFP was a significant achievement in the field of research on the pathogenicity of torradoviruses. The obtained recombinant virus, ToTV-GFP, was used to monitor the infection process in the infected plant [2]. Using the ToTV infectious clone, it was possible to analyze the involvement of the virus 3A protein in the process of infection of tomato and tobacco (*Nicotiana benthamiana*) [3].

The conducted experiments improved the research methods and the knowledge in the field of molecular mechanisms determining the pathogenicity of torradoviruses.

The work was supported by grant from National Research Centre no 2016/21/D/NZ9/02478

References

1. Gibson DG, Young L, Chuang RY, Venter JC, Hutchison CA 3rd, Smith HO (2009) Enzymatic assembly of DNA molecules up to several hundred kilobases. *Nat Methods* 6(5): 343-5.
2. Wieczorek P, Budziszewska M, Frąckowiak P, Obrępańska-Stęplowska A (2020) Development of a new tomato torrado virus-based vector tagged with GFP for monitoring virus movement in plants. *Viruses* 12(10): 1195.
3. Wieczorek P, Obrępańska-Stęplowska A (2016) A single amino acid substitution in movement protein of tomato torrado virus influences ToTV infectivity in *Solanum lycopersicum*. *Virus Res* 213: 32-36.

Asocjacyjne i fizyczne mapowanie markerów związanych z opornością na fuzarium u kukurydzy, uzyskanych w wyniku sekwencjonowania nowej generacji (NGS)

Aleksandra Sobiech, Agnieszka Tomkowiak, Julia Spychała

Uniwersytet Przyrodniczy, Katedra Genetyki i Hodowli Roślin Dojazd 11, 60-632, Poznań, Poland

e-mail: aleksandra.sobiech@up.poznan.pl

Na podstawie badań wykonanych w ostatnich kilku latach szacuje się, że choroby kukurydzy co roku są przyczyną strat wysokości plonu, sięgających nawet 30%. Za najgroźniejsze uważa się obecnie choroby powodowane przez grzyby z rodzaju *Fusarium*, będące głównymi sprawcami zgorzeli siewek, zgnilizny korzeni i zgorzeli podstawy łodygi, ale także najbardziej niebezpiecznej fuzariozy kolb. Wczesne porażenie roślin powoduje zdrobnienie ziarna, a także znaczne pogorszenie wartości pokarmowej oraz jakości paszy ze względu na obecność szkodliwych mikotoksyn. Wobec powyższego celem badań była identyfikacja nowych markerów typu SilicoDArT i SNP, które będzie można wykorzystać do masowej selekcji odmian odpornych na fuzarium. W skład materiału roślinnego wchodziło 186 linii wsobnych kukurydzy. Linie pochodziły z poletek doświadczalnych należących do dwóch polskich spółek hodowlanych: Hodowli Roślin Smolice Sp. z o. o. Grupa IHAR (51° 41' 23.16" N 17° 4' 18.241" E) oraz Małopolskiej Hodowli Roślin Sp. z o.o (50° 58' 19.411" N 16° 55' 47.323" E). W wyniku sekwencjonowania nowej generacji łącznie otrzymano 81 602 markery molekularne, z których w wyniku mapowania asocjacyjnego wybrano 2 962 (321 SilicoDArT i 2 641 SNP) istotnie związanych z odpornością roślin na fuzarium. Spośród 2 962 markerów istotnie związanych z odpornością roślin na fuzarium wybrano 7 markerów (SilicoDArT, SNP), które były istotne na poziomie 0.001. Zostały wykorzystane do mapowanie fizycznego. W wyniku analiz stwierdzono, że 2 z 7 wytypowanych markerów (15097 – SilicoDArT i 58771 - SNP) są zlokalizowane wewnątrz genów, odpowiednio na chromosomach 2 i 3. Marker 15097 zakotwiczony jest w genie kodującym putrescine N-hydroxycinnamoyltransferase natomiast marker 58771 zakotwiczony jest w genie kodującym prekursor peroksydazy 72. Na podstawie danych literaturowych oba te geny mogą być związane z odpornością roślin na fuzarium. Wobec powyższego markery 15097 (SilicoDArT) i 58771 (SNP) mogą zostać wykorzystane w programach hodowlanych do selekcji linii odpornych na fuzarium.

Pracę wykonano w ramach projektu Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (Zea mays L.) finansowanego przez MR i RW

Associative and Physical Mapping of Markers Related to *Fusarium* in Maize Resistance, obtained by Next-Generation Sequencing (NGS)

Aleksandra Sobiech, Agnieszka Tomkowiak, Julia Spychała

Department of Genetics and Plant Breeding, Poznan University of Life Sciences, Dojazd 11, 60-632 Poznan

e-mail: aleksandra.sobiech@up.poznan.pl

On the basis of studies carried out in the last few years, it is estimated that maize diseases cause yield losses of up to 30% each year. The most dangerous diseases are currently considered to be caused by fungi of the genus *Fusarium*, which are the main culprits of root rot, ear rots, stalk rot.. Early plant infection causes grain diminution, as well as a significant deterioration in nutritional value and fodder quality due to the presence of harmful mycotoxins. Therefore, the aim of the research was to identify new markers of the SilicoDArT and SNP type, which could be used for mass selection of varieties resistant to fusarium. The plant material consisted of 186 inbred maize lines. The lines came from experimental plots belonging to two Polish breeding companies: Plant Breeding Smolice Ltd., Co. Plant Breeding and Acclimatization Institute - National Research Institute Group (51° 41' 23.16" N, 17° 4' 18.241" E) and Małopolska Plant Breeding Kobierzyce Ltd., Co. (50° 58' 19.411" N, 16° 55' 47.323" E). As a result of next-generation sequencing, a total of 81,602 molecular markers were obtained, of which, as a result of associative mapping, 2,962 (321 SilicoDArT and 2,641 SNP) significantly related to plant resistance to fusarium were selected. Out of 2,962 markers significantly related to plant resistance in the fusarium, seven markers (SilicoDArT, SNP) were selected, which were significant at the level of 0.001. They were used for physical mapping. As a result of the analyzes, it was found that two out of seven selected markers (15097 – SilicoDArT and 58771 – SNP) are located inside genes, on chromosomes 2 and 3, respectively. Marker 15097 is anchored to the gene encoding putrescine N-hydroxycinnamoyltransferase while marker 58771 is anchored to the gene encoding the peroxidase precursor 72. Based on the literature data, both of these genes may be associated with plant resistance to fusarium. Therefore, the markers 15097 (SilicoDArT) and 58771 (SNP) can be used in breeding programs to select lines resistant to fusarium.

This research was funded by Ministry of Agriculture and Rural Development, "Biological progress in plant production (recruitment 2020) as part of the research project "Analysis of genetic determinants of heterosis effect and fusarium resistance in maize (Zea mays L.)".

Profile ekspresji genu *Lr34* i związanych z nim miRNA u pszenicy zwyczajnej podczas reakcji odpornościowej na porażenie rdzą brunatną (*Puccinia triticina*)

Julia Spychała, Agnieszka Tomkowiak, Aleksandra Sobiech

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Genetyki i Hodowli Roślin, ul. Dojazd 11, 60-632 Poznań

e-mail: julia.spychala@up.poznan.pl

Podstawowe kierunki hodowli pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.) koncentrują się na wysokim plonowaniu, dobrej jakości handlowej, a także odporności na stresy biotyczne i abiotyczne. Jedną z najgroźniejszych chorób prowadzących do poważnych strat w uprawach pszenicy jest rdza brunatna, powodowana przez patogen grzybowy *Puccinia triticina* Eriks. Poznanie molekularnych mechanizmów interakcji roślina-patogen pozwoli na opracowanie nowych strategii hodowli odpornościowej pszenicy. Odporność na rdzę brunatną uwarunkowaną genetycznie scharakteryzowano w przypadku młodych roślin (seedling resistance), jak i roślin w stadium dorosłym. W stadium siewki odporność jest pionowo kontrolowana przez geny główne R, które często ulegają przełamaniu przez patogeny. W przypadku dojrzałych, odpornych na rdzę roślin obserwuje się odporność poziomą typu APR (adult plant resistance), która zabezpiecza roślinę przed wieloma rasami patogenów jednocześnie, wyróżniając się większą trwałością. Do genów APR należy m.in. gen *Lr34*, zidentyfikowany na chromosomie 7DL pszenicy. Celem badań była analiza profili ekspresji genu *Lr34* oraz trzech komplementarnych miRNA (miR9653b, miR9773 i miR9677b), po inokulacji rdzą brunatną. Materiał roślinny stanowiły odmiany referencyjne pszenicy (Artigas, NP846, Glenlea, Lerma Rojo, TX) zawierające locus genu *Lr34/Yr18/Sr57*. Identyfikacja markera genu *Lr34* w odmianach referencyjnych została przeprowadzona metodą łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR). Stres biotyczny został wywołany poprzez inokulację zarodnikami grzybów w kontrolowanych warunkach w fitotronie. Materiał roślinny stanowiły próbki tkanki liściowej pobrane przed inokulacją oraz 6, 12, 24 i 48 h po inokulacji. Do analizy różnic w ekspresji genu wykorzystano metodę qRT-PCR. W odmianie Artigas zaobserwowano wzrost poziomu ekspresji genu *Lr34* przy jednoczesnym spadku poziomu ekspresji miR9653b i odwrotnie. Podobne zależności zaobserwowano w przypadku odmian NP846 i TX w prawie wszystkich punktach czasowych. Wyniki analiz wskazują na możliwość blokowania ekspresji genu *Lr34* przez miR9653b.

The expression patterns of the *Lr34* gene and associated miRNAs in common wheat during resistance response to leaf rust (*Puccinia triticina*) infection

Julia Spychała, Agnieszka Tomkowiak, Aleksandra Sobiech

Poznan University of Life Science, Department of Plant Genetics and Breeding, ul. Dojazd 11, 60-632 Poznań

e-mail: julia.spychala@up.poznan.pl

The main trends in breeding common wheat (*Triticum aestivum* L.) focus on high yield, good trade quality, and resistance to biotic and abiotic stresses. One of the most dangerous diseases causing significant losses in wheat crops is leaf rust, caused by *Puccinia triticina* Eriks. The understanding of molecular mechanisms of plant-pathogen interactions will enable the development of new strategies for resistance breeding in wheat. Genetically determined resistance to leaf rust has been characterized in young plants (seedling resistance) as well as in plants at the adult stage. At the seedling stage, resistance is controlled vertically by R major genes, which are often broken by fungal pathogens. In mature rust-resistant plants, horizontal adult plant resistance (APR) is observed, which protects the plant against multiple races of pathogens simultaneously, distinguished by greater durability. Among the APR genes is the *Lr34* gene, identified on wheat chromosome 7DL. The aim of this study was to analyze the expression profiles of the *Lr34* gene and three complementary miRNAs (miR9653b, miR9773 and miR9677b) after inoculation with leaf rust. The plant material consisted of wheat reference varieties (Artigas, NP846, Glenlea, Lerma Rojo, TX) containing the *Lr34/Yr18/Sr57* locus. Identification of the *Lr34* gene marker in reference varieties was performed by polymerase chain reaction (PCR). Biotic stress was induced by inoculation with fungal spores under controlled conditions in a phytotron. Plant material consisted of leaf tissue samples collected before inoculation and 6, 12, 24 and 48 h post inoculation (hpi). The qRT-PCR method was used to analyze differences in gene expression. In Artigas variety, an increase in *Lr34* gene expression level was observed with a decrease in miR9653b expression level. Similar correlations were observed in NP846 and TX varieties at nearly all time points (hpi). The results of the analyses indicate that miR9653b may be capable of blocking *Lr34* gene expression.

Nowe induktory odporności jabłoni w zwalczaniu zarazy ogniowej (*Erwinia amylovora*)

Artur Mikiciński¹, Joanna Puławska¹, Danuta Wójcik¹, Maciej Spychalski²,
Rafał Kukawka^{2,3}, Marcin Smiglak^{2,3}

¹ Instytut Ogrodnictwa - PIB, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

² Poznański Park Naukowo Technologiczny, Rubież 46, 61-612 Poznań

³ Innosil Sp. z o.o., Rubież 46, 61-612 Poznań

email: artur.mikicinski@inhort.pl

Zaraza ogniowa (*Erwinia amylovora*) jest chorobą bakteryjną jabłoni i grusz mającą charakter systemiczny. Podstawą jej zwalczania pozostają niezmiennie od wielu lat preparaty miedziowe. Niestety mają one liczne ograniczenia, z których najważniejszym jest działanie powierzchniowe. Dodatkowo preparaty te mają działanie wyłącznie bakteriostatyczne. Obecnie obserwuje się wyraźną tendencję do ograniczania stosowania preparatów z tej grupy, ze względu m.in. na toksyczność dla środowiska. Sadownicy wykonujący zabiegi związkami miedzi są w stanie zanieczyścić glebę tym pierwiastkiem w podobny sposób jak robi to przemysł ciężki. Dodatkowo miedź powoduje dezaktywację pyłku kwiatowego, co może wpływać na obniżenie plonu i mieć duże znaczenie, zwłaszcza w dobie deficytu zapylaczy, dla których miedź również jest toksyczna. Niezależnie od wymienionych wad, preparaty miedziowe pozostają jedyną grupą skutecznych bakteriostatyków względem *Erwinia amylovora*. Nie jest wykluczone, że w nieodległej przyszłości, powstaną pewne ograniczenia związane z ich stosowaniem, a nawet całkowity zakaz aplikacji. Nowe „powierzchniowe zamienniki”, w walce z tą chorobą, zawsze będą mało skuteczne, ze względu na charakter patogena. Może to doprowadzić do wytworzenia poważnej luki w programie ochrony jabłoni przed tą groźną chorobą.

Alternatywą do chemicznych środków ochrony może być indukcja odporności roślin, która polega na czasowym wytworzeniu barier ograniczających lub uniemożliwiających rozwój choroby. Z dotychczas poznanych induktorów odporności jabłoni na zarazę ogniową literatura, w tym najnowsza, wymienia min. preparat Bion 50 WG (BTH) i Regalis 10 WG (proheksadion wapnia). Natomiast brak jest nowych i skutecznych induktorów odporności jabłoni na tę chorobę.

Celem naszych badań była ocena skuteczności pochodnych kwasu salicylowego, w ochronie pędów i kwiatów jabłoni, przeciwko zarazie ogniowej. Pędy jabłoni indukowano kwasami: 3-chloro salicylowym, 5-chloro salicylowym oraz 3,5-chloro salicylowym, uzyskując zadowalającą ochronę w zakresie od 43 do 85%. Zwalczanie choroby na kwiatach przeprowadzono dla dwóch pierwszych wymienionych kwasów. Wykazały one skuteczność od 44 do 61%. Badane warianty nie różniły się statystycznie od preparatu komercyjnego Bion 50 WG, zastosowanego dla porównania.

Pracę wykonano w ramach projektu "Nowe induktory odporności roślin oraz ich zastosowanie jako innowacyjne podejście do ochrony roślin przed patogenami" jest realizowany w ramach programu TEAM TECH (POIR.04 / 04.00-00-5BD9 / 17-00) Fundacji na rzecz Nauki Polskiej, współfinansowanego przez Unię Europejską z programu Inteligentny Rozwój

New apple resistance inducers in the control of fire blight (*Erwinia amylovora*)

Artur Mikiciński¹, Joanna Puławska¹, Danuta Wójcik¹, Maciej Spychalski²,
Rafał Kukawka^{2,3}, Marcin Smiglak^{2,3}

¹The National Institute of Horticulture, Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewce

²Poznan Science and Technology Park, Rubież 46, 61-612 Poznan

³Innosil Company, Rubież 46, 61-612 Poznan

email: artur.mikicinski@inhort.pl

Fire blight (*Erwinia amylovora*) is a systemic bacterial disease of apple and pear trees. The basis of its control has been copper preparations, invariably for many years. Unfortunately, they have numerous limitations, the most important of which is limited to the surface effect. In addition, these preparations only have a bacteriostatic effect. Currently, there is a clear tendency to limit the use of preparations from this group, due to e.g. environmental toxicity. Growers who perform treatments with copper compounds are able to contaminate the soil with this element in a similar way to heavy industry. In addition, copper inactivates pollen, which may reduce the yield and be of great importance, especially in the era of pollinator deficiency, for which copper is also toxic. Regardless of the above-mentioned disadvantages, copper preparations remain the only group of effective bacteriostatic agents against *Erwinia amylovora*. It is possible that in the near future there will be some restrictions on its use, or even a complete ban on applications. New "surface substitutes" in the fight against this disease will always be ineffective due to the nature of the pathogen. This can lead to the creation of a serious gap in the apple protection program against this dangerous disease.

An alternative to chemical protection may be the induction of plant resistance, which consists in the temporary creation of barriers limiting or preventing the development of the disease. The previously known inducers of apple tree resistance to fire blight include Bion 50 WG (BTH) and Regalis 10 WG (calcium prohexadione). However, there are no new and effective inducers of apple immunity to this disease.

The aim of our research was to evaluate the effectiveness of salicylic acid derivatives in the protection of apple shoots and flowers against fire blight. Apple shoots were induced with 3-chlorosalicylic, 5-chlorosalicylic and 3,5-chlorosalicylic acids, obtaining satisfactory protection in the range from 43 to 85%. Disease control on flowers was performed with the first two compounds. They showed effectiveness from 44 to 61%. The tested variants did not differ statistically from the commercial preparation Bion 50 WG, used for comparison.

This research was funded by the Foundation for Polish Science, co-financed by the European Union from the Intelligent Development program (project New plant resistance inducers and their use as an innovative approach to plant protection against pathogens" is carried out under the TEAM TECH program; POIR.04 / 04.00-00-5BD9 / 17-00)

Kiła kapusty w Polsce

Małgorzata Jedryczka, Noor Ramzi, Joanna Kaczmarek

Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, ul. Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

e-mail: mjed@igr.poznan.pl

Kiła kapusty to groźna choroba roślin kapustowatych, zarówno w małoobszarowych uprawach roślin warzywnych, jak też na wielkoobszarowych plantacjach rzepaku ozimego i jarego a także roślin kapustowatych uprawianych w poplonach ścierniskowych i międzyplonach. Co więcej niejednokrotnie objawy kiły kapusty spotykane są na chwastach, co dodatkowo przyczynia się do utrzymania wysokiego stężenia patogena w glebie. W wykładzie wskazane zostaną regiony w Polsce z wysokim stopniem skażenia gleb patogenem *Plasmodiophora brassicae*, wywołującym kiłę kapusty oraz zakresy jego stężeń i rekomendacje dla producentów rzepaku, opracowane na tej podstawie. Badania przeprowadzone w Polsce z wykorzystaniem metody Real-time PCR wykazały znaczny udział gleb z wysokim stężeniem patogena. Aż 10% gleb nie rekomendowano do obsiania rzepakiem ani do uprawy warzyw kapustowatych. Ponadto przedstawimy wyniki najnowszych badań na temat patotypów *P. brassicae* oznaczonych na podstawie czterech najczęściej stosowanych systemów ich oceny (Somé, Williams, Buczacki i Strelkov). Poszukiwanie źródeł odporności doprowadziło do wskazania niektórych genotypów roślin kapustowatych ze światowych zasobów genowych, w tym m.in. z rodzaju *Raphanus*. Wyniki uzyskane w warunkach Polski będą przedstawione na tle globalnego zagrożenia kiłą kapusty dla upraw roślin kapustowatych na świecie.

Clubroot in Poland

Małgorzata Jedryczka, Noor Ramzi, Joanna Kaczmarek

Institute of Plant Genetics, Polish Academy of Sciences, Strzeszynska 34, 60-479 Poznan

e-mail: mjed@igr.poznan.pl

Clubroot is a damaging disease of cruciferous plants, both in vegetable crops usually grown on relatively small areas, in large-field crops of winter and spring oilseed rape, as well as cruciferous plants grown as catch crops and intercrops. Moreover, the symptoms of clubroot are often found on weeds, which additionally contribute to the persistence of a high pathogen concentration in the soil. We will point out at regions of Poland with a high degree of soil infestation by *Plasmodiophora brassicae*, which causes clubroot, as well as the ranges of its concentration and recommendations for rapeseed producers, developed on this basis. Research conducted in Poland using the Real-time PCR system showed a significant share of soils with a high concentration of the pathogen. As much as 10% of agricultural areas studied were not recommended for the cultivation of oilseed rape or for the production of Brassica vegetables. In addition, we will present the results of the latest research on *P. brassicae* pathotypes determined on the basis of the four most commonly used evaluation systems (Somé, Williams, Buczacki and Strelkov). The search for the sources of resistance led to the identification of some genotypes of Brassica plants from world genetic resources, including the genus *Raphanus*. The results obtained in Poland will be shown at the broader context concerning the cultivation of Brassica crops worldwide.

Co czyha w glebie, powietrzu i wodzie?

Marta Bełka,

Katedra Entomologii i fitopatologii leśnej, ul. Wojska Polskiego 71C, 60-625 Poznań

e-mail: marta.belka@up.poznan.pl

W ciągu ostatnich 500 lat bariery geograficzne, które przez miliony lat utrzymywały niemal statyczny rozkład bioty na świecie, zostały zniszczone przez działalność człowieka, w konsekwencji czego niektóre organizmy wykroczyły poza swój naturalny zasięg (Richardson et al. 2000). Ekspansja organizmów wzrosła ogromnie w ostatnim stuleciu, w wyniku wzrostu podróży i handlu międzynarodowego, powodujący ogromne zakłócenia ekosystemów i poważne skutki społeczno-gospodarcze (Aukema i in., 2011). Coraz częściej mamy do czynienia z pojawieniem się wcześniej nieobecnych na danym obszarze patogenów, jak również ich nowych, patogenicznych szczepów.

Co czyha na nasze drzewa? Czy jesteśmy w stanie temu zapobiec? Jak możemy chronić się przed takimi inwazjami?

Literatura

1. Aukema JE, Leung B, Kovacs K, Chivers C, Britton KO, Englin J, Frankel SJ, Haight RG, Holes TP, Liebhold AM et al. 2011. Economic impacts of non-Native forest insects in the United States. PLoS ONE 6: e24587.
2. Richardson DM, Pysek P, Rejmanek M, Barbour MG, Panetta FD, West CJ. 2000. Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. Diversity and Distributions 6: 93–107.

What lurks in soil, air and water?

Marta Bełka,

Department of Forest Entomology and Phytopathology, ul. Wojska Polskiego 71C, 60-625 Poznań

e-mail: marta.belka@up.poznan.pl

Over the past 500 years, the geographic barriers that for millions of years have maintained an almost static distribution of biota around the world have been destroyed by human activities, with the result that some organisms have moved beyond their natural range (Richardson et al. 2000). The expansion of organisms has increased tremendously in the last century as a result of increased travel and international trade, causing massive disruption to ecosystems and severe socio-economic impacts (Aukema et al., 2011). We are increasingly dealing with the appearance of previously absent pathogens in a given area and their new, pathogenic strains.

What threatens our trees? Are we able to prevent it? How can we protect trees from such invasions?

References

3. Aukema JE, Leung B, Kovacs K, Chivers C, Britton KO, Englin J, Frankel SJ, Haight RG, Holes TP, Liebhold AM et al. 2011. Economic impacts of non-Native forest insects in the United States. PLoS ONE 6: e24587.
4. Richardson DM, Pysek P, Rejmanek M, Barbour MG, Panetta FD, West CJ. 2000. Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. Diversity and Distributions 6: 93–107.

Mikrobiomy w agroekosystemach – bioróżnorodność funkcjonalna i strukturalna oraz interakcje i mechanizmy istotne dla rozwoju zrównoważonych strategii produkcji rolniczej

Magdalena Frac

Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

e-mail: m.frac@ipan.lublin.pl

W dominujących obecnie systemach uprawy, nawożenie roślin należy do kluczowych elementów zapewniających ich plonowanie, a wciąż pomijane są aspekty związane z mikrobiomem gleb i roślin, które mogą poprawić rekrutację pożytecznych mikroorganizmów ze środowiska glebowego w celu mobilizacji składników odżywczych i ochrony roślin.

Zrównoważone, nowatorskie strategie produkcji roślinnej coraz częściej obejmują koncepcje oparte na założeniu, że rośliny w naturalny sposób wchodzą w interakcje z pożytecznymi mikroorganizmami glebowymi, które ograniczają ich zależność od stosowania nawozów mineralnych. Przykładem mogą być odmiany roślin o zwiększonej biomase korzeni, które bardziej wydajnie rekrutują pożyteczne mikroorganizmy glebowe. Dodatkowo, im większa jest bioróżnorodność mikroorganizmów w środowisku glebowym, tym łatwiej korzeniom roślin przyciągać mikroorganizmy pożyteczne, które uczestniczą w mobilizacji składników odżywczych, zmniejszają stresy abiotyczne czy zapobiegają chorobom roślin powodowanym przez patogeny. Wydajność wykorzystania składników odżywczych wzrasta wraz ze wzrostem mikroorganizmów w strefie korzeniowej przy jednoczesnym zredukowanym nawożeniu, przyczyniając się również do zmniejszenia zanieczyszczenia wód gruntowych. Takie podejście jest szczególnie korzystne dla upraw podatnych na szkodniki, choroby i inne czynniki stresu środowiskowego, w tym zmiany klimatu.

Dlatego też prowadzone badania mają na celu identyfikację roślin, które skutecznie oddziałują z mikrobiomem glebowym, wybierając w ten sposób odmiany, które są w mniejszym stopniu zależne od stosowanych nawozów mineralnych i pestycydów, biorąc pod uwagę warunki kontrolne oraz różne czynniki stresowe, w tym biotyczne (patogeny) i abiotyczne (susza). Dodatkowo ważnym aspektem prowadzonych badań jest próba określenia zmian mikrobiomu roślin zdrowych i chorych. Ponadto, analiza mikrobiomu gleb i roślin pozwala ocenić skuteczność stosowanych zabiegów agrotechnicznych, sposobów uprawy czy wykorzystywanych bioproduktów w utrzymaniu bioróżnorodności, stabilności i zdrowia agroekosystemów.

Takie podejście z jednej strony wspiera rozwój metod hodowlanych w celu selekcji odmian roślin, które skutecznie oddziałują z mikrobiomem glebowym, poprawiając w ten sposób zdrowotność roślin oraz ich produkcję i odporność na czynniki stresowe. Z drugiej zaś strony zapewnia rozwój nowatorskich metod zarządzania uprawami i szkodnikami, uwzględniając interakcje między roślinami a organizmami glebowymi, obejmujące koncepcję rośliny jako metaorganizmu (holobiont), które poprawiają efektywność wykorzystania zasobów glebowych oraz odporność roślin na choroby i stresy środowiskowe.

BIOSTRATEG3/344433/16/NCBR/2018; BIOSTRATEG3/347464/5/NCBR/2017; ERA-NET SusCrop SUSCROP/I/POTATOMETABIOME/01/2019/NCBR; PRELUDIUM BIS-2 NCN UMO-2020/39/O/NZ9/03421; OPUS 12 NCN UMO-2016/23/B/NZ8/00564; OPUS 15 NCN UMO-2018/29/B/NZ9/00982; LIDER/7/0054/L-12/20/NCBR/2021; MINIATURA 5 NCN DEC 2021/05/X/NZ9/01672; MINIATURA 5 NCN 2021/05/X/NZ9/00341; EJP SOIL Proposal ID7 DWM/EJP SOIL/I/94/2022 SOMPACS NCBR; HORIZON EUROPE Proposal numer 101082289 LEGUMINOSE.

Microbiomes in agroecosystems - functional and structural biodiversity as well as interactions and mechanisms important for the development of sustainable agricultural production strategies

Magdalena Frąć

Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

e-mail: m.frac@ipan.lublin.pl

In the prevailing cultivation systems, plants fertilization is one of the key elements ensuring their yield, and aspects related to the microbiome of soil and plant, which can improve the recruitment of beneficial microorganisms from the soil environment for nutrient mobilization and plant protection, are still neglected.

Sustainable, novel plant production strategies are increasingly including concepts based on the assumption that plants naturally interact with beneficial soil microorganisms that reduce their dependence on the use of mineral fertilizers. An example is plant cultivars with increased root biomass, which recruit beneficial soil microorganisms more efficiently. Additionally, the greater the biodiversity of microorganisms in the soil environment, the easier it is for plant roots to attract beneficial microorganisms that participate in the mobilization of nutrients, reduce abiotic stresses or prevent plant diseases caused by pathogens. The efficiency of nutrient utilization increases with the increase of microorganisms in the rhizosphere while reducing fertilization, also contributing to the reduction of groundwater contamination. This approach is particularly beneficial for crops that are vulnerable to pests, diseases and other environmental stressors, including climate change.

Therefore, the research conducted is aimed at identifying plants that effectively interact with the soil microbiome, thus selecting varieties that are less dependent on the mineral fertilizers and pesticides used, taking into account control and various stress factors, including biotic (pathogens) and abiotic (drought). Additionally, an important aspect of the research is an attempt to determine changes in the microbiome of healthy and diseased plants. In addition, the analysis of the soil and plant microbiome allows to assess the effectiveness of the applied agricultural management practices, cultivation methods or used bioproducts in maintaining the biodiversity, stability and health of agroecosystems.

On the one hand, this approach supports the development of breeding methods to select plant varieties that effectively interact with the soil microbiome, thus improving plant health, production and resistance to stress factors. On the other hand, it ensures the development of innovative methods of crop and pest management, taking into account the interactions between plants and soil organisms, including the concept of the plant as a meta-organism (holobiont), which improve the soil resources efficiency and plant resistance to diseases and environmental stresses.

BIOSTRATEG3/344433/16/NCBR/2018; BIOSTRATEG3/347464/5/NCBR/2017; ERA-NET SusCrop SUSCROP/I/POTATOMETABIOME/01/2019/NCBR; PRELUDIUM BIS-2 NCN UMO-2020/39/O/NZ9/03421; OPUS 12 NCN UMO-2016/23/B/NZ8/00564; OPUS 15 NCN UMO-2018/29/B/NZ9/00982; LIDER/7/0054/L-12/20/NCBR/2021; MINIATURA 5 NCN DEC 2021/05/X/NZ9/01672; MINIATURA 5 NCN 2021/05/X/NZ9/00341; EJP SOIL Proposal ID7 DWM/EJP SOIL/I/94/2022 SOMPACS NCBR; HORIZON EUROPE Proposal numer 101082289 LEGUMINOSE.

Wpływ kontaminacji gleby patogenem *Rhizoctonia solani* na profil metaboliczny mikroorganizmów ryzosfery wybranych odmian ziemniaka

Jacek Panek¹, Magdalena Frąc¹, Krzysztof Treder², Anna Pawłowska², Dorota Michałowska²,
Joana Falcão Salles³

¹ Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

² Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin - Państwowy Instytut Badawczy, Pracownia Diagnostyki Molekularnej i Biochemii, 76-009 Bonin

³ Department of Microbial Ecology, Center for Evolutionary and Ecological Studies, University of Groningen, 9700 CC, Groningen, The Netherlands

e-mail: j.panek@ipan.lublin.pl, m.frac@ipan.lublin.pl

Ziemniak należy do najpowszechniej uprawianych roślin na świecie, a Polska znajduje się wśród krajów o najwyższej produkcji tej rośliny w Unii Europejskiej [1]. Ze względu na zmieniające się warunki klimatyczne, powodujące wzrost podatności roślin na choroby, między innymi pochodzenia grzybowego [2,3], konieczne jest poszukiwanie odmian ziemniaków, które wchodzi w interakcje z pożytecznymi mikroorganizmami glebowymi oraz cechują się zwiększoną odpornością na choroby.

Celem badań było określenie zmian profilu metabolicznego mikrobiomu ryzosfery wybranych odmian ziemniaka pod wpływem kontaminacji gleby przez patogena *Rhizoctonia solani*. Próbki ryzosfery ziemniaka pobierano po 19 tygodniach wzrostu w wazonach. Badaniami objęto 51 odmian ziemniaka oraz glebę kontrolną bez rośliny. Doświadczenie prowadzono w dwóch wariantach, kontrolnym oraz kontaminowanym przez *R. solani*, w 3 powtórzeniach. W badaniach wykorzystano płytki EcoPlates systemu Biolog. 1g ryzosfery zawieszano w 99 ml płynu fizjologicznego z peptonem, a następnie po inkubacji, wytrząsaniu i sedymentacji cząstek gleby, zawiesinę nanoszono na płytki, które inkubowano przez 96 godzin w temperaturze 25°C. Pomiary absorbancji przy długości fal 590 nm i 750 nm były wykonywane co 24 godziny.

Zaobserwowano istotny wzrost różnorodności wykorzystanych substratów (ENS – effective number of substrates) oraz liczby wykorzystanych substratów (R- Richness) w wariacie infekowanym patogenem, względem kontrolnego. Odmiany w wariacie z patogenem cechowały się większym rozrzutem wartości różnorodności wykorzystanych substratów niż odmiany w wariacie kontrolnym.

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu ERA-NET SusCrop, numer umowy SUSCROP/I/POTATOMETABIOME/01/2019

Literatura

1. Eurostat. The EU potato sector - statistics on production, prices and trade. Available online: https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=The_EU_potato_sector_-_statistics_on_production,_prices_and_trade (accessed on 25 May 2022)
2. Zayan SA (2019) Impact of Climate Change on Plant Diseases and IPM Strategies. In: Plant Diseases - Current Threats and Management Trends, ed. by S. Topolovec-Pintarić, IntechOpen, London, United Kingdom.
3. Velásquez AC, Castroverde CDM, He SY (2018) Plant-Pathogen Warfare under Changing Climate Conditions. *Curr Biol* 28(10):R619-R634.

The impact of soil contamination by *Rhizoctonia solani* pathogen on metabolic profile of rhizospheres microorganisms of selected potato cultivars

Jacek Panek¹, Magdalena Fraç¹, Krzysztof Treder², Anna Pawłowska², Dorota Michałowska²,
Joana Falcão Salles³

¹Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, Poland

²Plant Breeding and Acclimatization Institute (IHAR) - National Research Institute, Laboratory of Molecular Diagnostics and Biochemistry, 76-009 Bonin, Poland

³Department of Microbial Ecology, Center for Evolutionary and Ecological Studies, University of Groningen, 9700 CC, Groningen, The Netherlands

e-mail: j.panek@ipan.lublin.pl, m.frac@ipan.lublin.pl

Potato is one of the most commonly cultivated plant in the world. According to Eurostat Poland is currently one of the largest potato producer in European Union [1]. Due to climate changes, susceptibility of plants toward fungal pathogens rises [2,3]. Hence it is necessary to study and recognize such potato cultivars that due to interactions with beneficial soil microorganism may present risen resistance to diseases.

The aim of the study was to determine changes in metabolic profile of rhizosphere of selected potato cultivars in soil contaminated with *Rhizoctonia solani*. Rhizosphere samples of 51 potato cultivars and control bulk soil were collected after 19 weeks of growth in pots. Study was conducted in triplicate in not contaminated control soil and variant contaminated by *R. solani*. To determine metabolic profiles, EcoPlates of Biolog system were used. 1g of rhizosphere was suspended in 99 ml of saline peptone water, incubated and shaken. Suspension after sedimentation of solid particles was then used to inoculate EcoPlates. Plates were then incubated in 25°C through 96 hours. Results were collected by measuring absorbance at 590 nm and 750 nm every 24 hours.

We observed significant increase in diversity of utilized substrates (ENS – effective number of substrates) and richness of utilized substrates in variant contaminated with pathogen. However, we also observed that tested parameters of cultivars grown in contaminated soil were more scattered.

This paper was financed by The National Centre for Research and Development in frame of the ERA-NET SusCrop, contract number SUSCROP/I/POTATOMETABIOME/01/2019

References

1. Eurostat. The EU potato sector - statistics on production, prices and trade. Available online: https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=The_EU_potato_sector_-_statistics_on_production,_prices_and_trade (accessed on 25 May 2022)
2. Zayan SA (2019) Impact of Climate Change on Plant Diseases and IPM Strategies. In: Plant Diseases - Current Threats and Management Trends, ed. by S. Topolovec-Pintarić, IntechOpen, London, United Kingdom.
3. Velásquez AC, Castroverde CDM, He SY (2018) Plant–Pathogen Warfare under Changing Climate Conditions. *Curr Biol* 28(10):R619-R634.

Obfitość grzybów fitopatogenicznych oraz pozostałych gildii w glebie, ryzosferze, korzeniach i liściach ekologicznej truskawki

Dominika Siegieda, Jacek Panek, Magdalena Frąć

Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

e-mail: d.siegieda@ipan.lublin.pl

Badania metataksonomiczne i analizy bioinformatyczne oferują szeroki zakres zastosowań, począwszy od taksonomicznego przyporządkowania wszystkich mikroorganizmów obecnych w analizowanej próbce, po wykorzystanie baz danych do predykcji charakterystyki zbiorowiska mikroorganizmów występujących w badanym środowisku. Bazami danych, które gromadzą informacje o gildiach ekologicznych i cechach troficznych grzybów, są bazy FunGuild [1] i FungalTriats [2].

W celu zbadania, w jaki sposób struktura troficzna trybów i gildie mikroorganizmów grzybowych różnią się pomiędzy typami próbek na ekologicznych plantacjach truskawki, wyizolowaliśmy DNA z gleby, gleby ryzosferowej, korzeni i pędów zebranych z ekologicznych plantacji truskawki. Następnie zamplikowaliśmy grzybowy marker identyfikacyjny ITS1 i zsekwencjonowaliśmy materiał genetyczny przy użyciu sekwenatora Illumina MiSeq. Następnie wykorzystaliśmy środowisko QIIME2 [3] i wymienione bazy danych w RStudio (ver. 4.1.2) w celu identyfikacji poziomów troficznych i przynależności do gildii badanych grzybów.

Dominującą grupą troficzną w glebie, ryzosferze i korzeniach były saprotrofy, a w pędach - patotrofy. Dalsze badania wykazały, że patogeny roślinne są najliczniejszą grupą we wszystkich rodzajach prób na analizowanych plantacjach truskawki. Wskazuje to na konieczność przywrócenia zdrowia gleb oraz odwrócenia utraty bioróżnorodności, które należą do głównych cech charakterystycznych rolnictwa regeneracyjnego [4], a także potwierdza potrzebę opracowywania i wdrażania nowych rozwiązań biotechnologicznych i narzędzi umożliwiających szybką diagnostykę, monitoring i ochronę upraw truskawki w celu zrównoważonej i ekologicznej produkcji żywności.

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu BIOSTRATEG, numer umowy BIOSTRATEG3/344433/16/NCBR/2018

Literatura

1. Nguyen, N.H.; Song, Z.; Bates, S.T.; Branco, S.; Tedersoo, L.; Menke, J.; Schilling, J.S.; Kennedy, P.G. (2016) FUNGuild : An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecology*, 20, 241–248.
2. Pöhlme, S.; Abarenkov, K.; Henrik Nilsson, R.; Lindahl, B.D.; Clemmensen, K.E.; Kausserud, H.; Nguyen, N.; Kjølner, R.; Bates, S.T.; Baldrian, P.; et al. (2020) FungalTraits: a user-friendly traits database of fungi and fungus-like stramenopiles. *Fungal Diversity*, 105, 1–16.
3. Bolyen, E.; Rideout, J.R.; Dillon, M.R.; Bokulich, N.A.; Abnet, C.C.; Al-Ghalith, G.A.; Alexander, H.; Alm, E.J.; Arumugam, M.; Asnicar, F.; et al. (2019) Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology*, 37, 852–857
4. EASAC, Regenerative agriculture in Europe A critical analysis of contributions to European Union Farm to Fork and Biodiversity Strategies. European Academies Science Advisory Council, EASAC policy report 44, pp. 70, April 2022, ISBN: 978-3-8047-4372-4, www.easac.eu

Abundance of phytopathogenic fungi and other guilds in soil, rhizosphere, roots and leaves of organic strawberry

Dominika Siegieda, Jacek Panek, Magdalena Frąć

Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, Doświadczalna 4 street, 20-290 Lublin

e-mail: d.siegieda@ipan.lublin.pl

Metataxonomic research and bioinformatical analyses offer broad range of applications, starting from taxonomic classification of all microorganisms present in a particular sample, to utilization of databases for prediction of characterization of the microbial community found in the samples being analyzed. Such two databases, that collect the information regarding fungal trophic modes and guilds, are and FunGuild [1] and FungalTriats [2] databases.

To investigate how the structure of fungal trophic modes and guilds differentiates between different sample types inorganic strawberry plantations, we isolated the DNA from bulk soil, rhizosphere soil, roots and shoots that we collected from organic plantations of strawberry. Then, we amplified the fungal identification marker ITS1 and sequenced the genetic material with Illumina MiSeq. We then used QIIME2 [3] environment and mentioned databases in RStudio (ver. 4.1.2) to parse the taxonomy with fungal trophic modes and guilds they represent.

The dominant trophic mode in bulk soil, rhizosphere soil, and roots was Saprotrophs, and in shoots - Pathotrophs. Further investigation that showed guilds within those trophic modes revealed, that Plant Pathogens are the most abundant group within all of the sample types in analyzed plantations of strawberry. This demonstrates the need to restore soil health and to reverse biodiversity loss, which are the main characteristic features of regenerative agriculture [4], and confirms the need to develop and implement new biotechnology solutions and tools for diagnosis, monitoring and protection of strawberry crops for sustainable and organic food production.

The work was financed by The National Centre for Research and Development in frame of the project BIOSTRATEG, BIOSTRATEG3/344433/16/NCBR/2018

References

1. Nguyen, N.H.; Song, Z.; Bates, S.T.; Branco, S.; Tedersoo, L.; Menke, J.; Schilling, J.S.; Kennedy, P.G. (2016) FUNGuild : An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecology*, 20, 241–248.
2. Pöhlme, S.; Abarenkov, K.; Henrik Nilsson, R.; Lindahl, B.D.; Clemmensen, K.E.; Kausserud, H.; Nguyen, N.; Kjøller, R.; Bates, S.T.; Baldrian, P.; et al. (2020) FungalTraits: a user-friendly traits database of fungi and fungus-like stramenopiles. *Fungal Diversity*, 105, 1–16.
3. Bolyen, E.; Rideout, J.R.; Dillon, M.R.; Bokulich, N.A.; Abnet, C.C.; Al-Ghalith, G.A.; Alexander, H.; Alm, E.J.; Arumugam, M.; Asnicar, F.; et al. (2019) Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology*, 37, 852–857
4. EASAC, Regenerative agriculture in Europe A critical analysis of contributions to European Union Farm to Fork and Biodiversity Strategies. European Academies Science Advisory Council, EASAC policy report 44, pp. 70, April 2022, ISBN: 978-3-8047-4372-4, www.easac.eu

Wpływ grzybów endomikoryzowych rodzaju *Rhizophagus* na mechanizm wyższej odporności roślin trawiastych na porażenie przez patogeny

Małgorzata Jeske¹, Dariusz Pańka¹, Anna Baturo-Cieśniewska¹, Karol Lisiecki¹

¹ Politechnika Bydgoska, Katedra Biologii i Ochrony Roślin, Al. prof. S. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz

e-mail: Malgorzata.Jeske@pbs.edu.pl

Rośliny trawiaste rozwinęły szereg symbiotycznych asocjacji z grzybami. Należą do nich układy endo- oraz ektomikoryzowe, jak i mutualistyczne asocjacje z endofitami rozwijającymi się systemicznie wewnątrz źdźbeł. Istotnym problemem podczas uprawy jest ich niska odporność na stresy biotyczne i abiotyczne, co sprzyja częstemu porażeniu przez wiele gatunków grzybów patogenicznych w czasie okresu wegetacji. Dzięki zdolności tworzenia układów symbiotycznych możliwe jest wzbudzenie różnych mechanizmów obronnych jakie posiada roślina. Oprócz poznanych endofitów zasiedlających trawy, mających korzystny wpływ na stymulację wzrostu roślin, szczególną uwagę należy zwrócić na arbuskularne grzyby mikoryzowe (AGM). Grzyby te rozwijają się w roślinie systemicznie, przerastając przestrzenie międzykomórkowe bez wywoływania jakichkolwiek objawów porażenia. Należą do mikroorganizmów glebowych tworzących układy symbiotyczne z niemalże 90% roślin na Ziemi. Dostarczają roślinie składników odżywczych potrzebnych do wzrostu, zwiększają jej tolerancję na stres suszy i skażenie gleby metalami ciężkimi, chronią przed uszkodzeniami mechanicznymi a także stymulują specyficzne mechanizmy odpornościowe w roślinie poprzez wzbudzanie indukowanej odporności systemicznej (ISR). Najprawdopodobniej symbiont indukuje mechanizmy obronne w roślinie żywicielskiej na poziomie fizjologicznym oraz biochemicznym. Do mechanizmów tych zaliczane jest najczęściej wytwarzanie molekuł sygnałowych, produkcja białek PR (pathogenesis related) i związków fenolowych.

Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu grzybów endomikoryzowych rodzaju *Rhizophagus* na indukowanie mechanizmów wyższej odporności życicy trwałej porażonej przez *Fusarium poae* i *Drechslera teres*. Po 2, 4 i 6 dniach od inokulacji przeprowadzono ocenę stopnia porażenia 10 liści z każdego powtórzenia. Wykonano szereg analiz na obecność związków fenolowych oraz aktywność białek odpornościowych w tym chitynaz, β -1,3-glukanaz oraz białka ogólnego.

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono wpływ grzybów endomikoryzowych rodzaju *Rhizophagus* na stopień porażenia życicy trwałej przez *F. poae* i *D. teres*. U roślin zasiedlonych grzybem endomikoryzowym obserwowano słabsze objawy chorobowe w porównaniu z roślinami bez symbionta. Rośliny zasiedlone grzybem endomikoryzowym wykazywały także znacznie wyższy poziom specyficznej aktywności β -1,3-glukanaz. Zaobserwowano brak wpływu obecności grzybów rodzaju *Rhizophagus* na produkcję związków fenolowych w roślinach infekowanych *F. poae* i *D. teres*. Wyniki sugerują zatem, że związki fenolowe nie odgrywają ważnej roli w mechanizmach obronnych roślin zasiedlonych symbiontem.

The effects of endomycorrhizal fungi of the genus *Rhizophagus* on the mechanism of increased resistance of grass plants to pathogens

Małgorzata Jeske¹, Dariusz Pańka¹, Anna Baturo-Cieśniewska¹, Karol Lisiecki¹

¹Bydgoszcz University of Science and Technology, Department of Biology and Plant Protection, Kaliskiego 7 St., 85-796 Bydgoszcz, Poland

e-mail: Malgorzata.Jeske@pbs.edu.pl

Grass plants have developed many of symbiotic associations with fungi. These include endo- and ectomycorrhizal systems, as well as mutualistic associations with endophytes that develop systematically inside the stalks. Low resistance to biotic and abiotic stresses is found to be a significant problem during cultivation, which favours frequent infection by many species of pathogenic fungi during the growing season. Due to the ability to form symbiotic systems, it is possible to induce various defense mechanisms possessed by plant. Apart from the known endophytes, having positive effect in stimulation of plant growth, special attention should be paid to arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). These fungi develop systematically in the plant, spreading over the intercellular spaces without causing any symptoms of infection. They belong to soil microorganisms that form symbiotic systems with almost 90% of plants on Earth. They provide the plant with nutrients needed for growth, increase its tolerance to drought stress and soil contamination with heavy metals, protect against mechanical damage and stimulate specific immune mechanisms in the plant by inducing induced systemic resistance (ISR). Most likely, the symbiote induces defense mechanisms in the host plant at the physiological and biochemical levels. The production of signaling molecules, PR (pathogenesis related) proteins and phenolic compounds is related to these mechanisms .

The aim of the research was to determine the effect of endomycorrhizal fungi of the genus *Rhizophagus* on inducing the mechanisms of higher resistance of perennial ryegrass infected by *Fusarium poae* and *Drechslera teres*. The level of infestation on 10 leaves of each replicate was assessed at 2,4 and 6 days from inoculation. A series of analyzes for the presence of phenolic compounds and the activity of immune proteins, including chitinases, β -1,3-glucanases and general protein were performed.

We found the effect of endomycorrhizal fungi of the genus *Rhizophagus* on the level of infection of perennial ryegrass by *F. poae* and *D. teres*. In the plants inhabited by the endomycorrhizal fungus, weaker disease symptoms were observed as compared to the plants without the symbiote. Plants with endomycorrhizal fungus also showed a much higher level of specific β -1,3-glucanase activity. The presence of fungi of the genus *Rhizophagus* did not affect the production of phenolic compounds in plants infected with *F. poae* and *D. teres*. The results therefore suggest that phenolic compounds do not play an important role in the defense mechanisms of plants inhabited by symbiote.

Nova Trawa – Wprowadzenie na rynek innowacyjnej odmiany życicy trwałej zasiedlonej przez symbiotyczne grzyby endofityczne

Dariusz Pańka¹, Małgorzata Jeske¹, Aleksander Łukanowski¹, Anna Baturó-Cieśniewska¹, Piotr Prus², Dariusz Rydzyński³, Jean De Dieu Muhire³, Barbara Wiewióra⁴, Grzegorz Żurek⁴, Natalia Narewska⁵, Robert Karczykowski⁶

¹ Politechnika Bydgoska, Katedra Biologii i Ochrony Roślin, Al. prof. S. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz

² Politechnika Bydgoska, Katedra Agronomii, Al. prof. S. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz

³ Hodowla Roślin Grunwald sp. z o.o. Grupa IHAR, Mielno 163, 14-107 Mielno

⁴ Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Radzików

⁵ Kujawsko-Pomorski Ośrodek Doradztwa Rolniczego, Minikowo

⁶ Indywidualne Gospodarstwo Rolne, Kronowo

e-mail: Dariusz.Panka@pbs.edu.pl

Konieczność zmniejszenia ilości stosowanych środków ochrony roślin w najbliższym dziesięcioleciu, wynikająca z zasad Europejskiego Zielonego Ładu, nakłada na producentów rolnych określone ograniczenia z tym związane. W tej sytuacji szansą dla rolnictwa jest wykorzystanie zdobyczy nauki oraz wsparcie szeroko pojętej współpracy Nauki z Biznesem dla możliwie szybkiego wdrażania nowych, innowacyjnych rozwiązań, stanowiących wsparcie zrównoważonej, bezpiecznej dla środowiska produkcji rolnej. Dla tego typu działań są uruchamiane dedykowane środki finansowe na poziomie programów Unii Europejskiej oraz poszczególnych krajów członkowskich, także przy wsparciu środków unijnych. W Polsce, bardzo dobrym przykładem działań o takim charakterze jest Działanie M16 „Współpraca” koordynowane przez Agencję Restrukturyzacji i Modernizacji Rolnictwa w ramach Programu Rozwoju Obszarów Wiejskich na lata 2014-2020. Celem tego działania jest „wsparcie tworzenia i funkcjonowania grup operacyjnych na rzecz innowacji (EPI) oraz realizacji przez te grupy projektów, których przedmiotem jest opracowanie i wdrożenie innowacji” w szeroko pojętym obszarze rolnictwa oraz produkcji i dystrybucji żywności, dla zrównoważonego rozwoju obszarów wiejskich i produkcji rolnej. Przykładem projektu zakwalifikowanego do finansowania w ramach tego działania jest projekt „Wprowadzenie na rynek innowacyjnej odmiany życicy trwałej zasiedlonej przez symbiotyczne grzyby endofityczne”. Projekt jest realizowany przez konsorcjum EPI pod nazwą NOVA TRAWA. W skład konsorcjum wchodzi: Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich w Bydgoszczy (Lider), Hodowla Roślin GRUNWALD Sp. z o.o. – Grupa IHAR z siedzibą w Bartążku, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – PIB w Radzikowie, Kujawsko-Pomorski Ośrodek Doradztwa Rolniczego w Minikowie oraz indywidualny producent rolny. Efektem realizacji w/w projektu będzie innowacja produktowa, technologiczna oraz marketingowa dla zrównoważonego rolnictwa. Celami szczegółowymi operacji są:

- stworzenie innowacyjnej odmiany życicy trwałej zasiedlonej przez symbiotyczne grzyby endofityczne rodzaju *Epichloë*,
- opracowanie innowacyjnej technologii produkcji odmian traw udoskonalonych symbiotycznie za pomocą endofitów,
- opracowanie i wdrożenie znacznie udoskonalonej, innowacyjnej strategii marketingowej dotyczącej promocji i upowszechniania uprawy oraz komercjalizacji innowacyjnych odmian życicy trwałej.

Dzięki obecności wyselekcjonowanych endofitów w roślinach zasiedlone trawy będą charakteryzowały się wyższą trwałością i lepszym wzrostem, wyższą odpornością na niedobory wody oraz tolerancją na zasolenie gleby, lepszym wykorzystaniem składników pokarmowych, wyższą odpornością na porażenie przez patogeniczne mikroorganizmy, a także mniejszą podatnością na uszkodzenia powodowane przez owady i nicienie. Pozwoli to producentom na większą elastyczność i

komfort produkcji w sytuacjach braku optymalnych warunków dla wzrostu roślin, szczególnie w warunkach nierównomiernego rozkładu opadów i niedoborów wody.

Projekt NOVA TRAWA jest finansowany w ramach działania „Współpraca”, Program Rozwoju Obszarów Wiejskich na lata 2014-2020, Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa Inwestująca w obszary wiejskie.



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich:
Europa inwestująca w obszary wiejskie”

Technologia eradykacji endofitów w produkcji traw modyfikowanych symbiotycznie

Jean De Dieu Muhire¹, Dariusz Pańka², Jan Mućko³

¹ Hodowla Roślin Grunwald sp. z o.o. Grupa IHAR, Mielno 163, 14-107 Mielno

² Politechnika Bydgoska, Katedra Biologii i Ochrony Roślin, Al. prof. S. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz

³ Politechnika Bydgoska, Al. prof. S. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz

e-mail: mujados88@gmail.com

Trawy należą do roślin wykorzystywanych głównie w celach paszowych oraz na terenach rekreacyjnych. Są bardzo często zasiedlane przez symbiotyczne mikroorganizmy. Do najważniejszych należą grzyby endomikoryzowe *Rhizophagus* spp. i *Glomus* spp. oraz endofity rodzaju *Epichloë*. Pierwsze dwa wnikają do korzeni i tam rozwijają się razem z rośliną. W glebie mogą przetrwać dzięki zarodnikom przetrwalnikowym. Natomiast, *Epichloë* spp. są wyspecjalizowanymi endosymbiontami rozwijającymi się wyłącznie w żywej roślinie, w jej nadziemnych partiach. Przenoszone są wertykalnie z nasionami traw lub horyzontalnie poprzez rozmnażanie wegetatywne. Obecność tych endofitów warunkuje wyższą odporność rośliny na liczne czynniki stresowe, zarówno biotyczne jak i abiotyczne. Asocjacje traw z endofitem charakteryzują się zazwyczaj wyższą trwałością w środowisku oraz są bardziej odporne na suszę i niedobory składników pokarmowych w glebie. Są także mniej podatne na porażenie przez patogeny oraz żerowanie szkodników. Trawy zasiedlane przez endofity mogą jednak stanowić zagrożenie dla zwierząt gospodarskich ze względu na produkcję szkodliwych toksyn. „Bezpieczne” asocjacje to takie, które są zasiedlane przez wyselekcjonowane endofity, tzw. novel endophytes. Wykorzystuje się je w procesie tworzenia symbiotycznie modyfikowanych traw. Wprowadzenie takich endofitów wymaga jednak wcześniejszego usunięcia szkodliwych, naturalnie występujących w odmianie uprawnej „dzikich” endosymbiontów. Proces eradykacji jest bardzo trudny i czasochłonny. Przeprowadza się go zazwyczaj z wykorzystaniem fungicydów lub wysokiej temperatury. Dlatego też, celowe jest poszukiwanie nowych, bardziej efektywnych i bezpieczniejszych dla środowiska metod. W związku z tym rozpoczęto badania nad opracowaniem nowej technologii eradykacji endofitów traw z wykorzystaniem plazmy niskotemperaturowej. Aktualnie, trwają prace nad optymalizacją parametrów pracy generatora plazmy, tj. mocy oraz czasu ekspozycji. Badania są prowadzone na życicy trwałej odmiany Bajka, którą tworzy 13 rodów. Nasiona poddane działaniu plazmy są wykładane na płytki Petriego z pożywką PDA oraz wysiewane do doniczek z substratem torfowym. Materiał nasienny oraz roślinny jest poddawany analizom mikroskopowym oraz molekularnym w celu określenia skuteczności zastosowanej metody. Wstępne wyniki wskazują na możliwość wykorzystania zimnej plazmy do eradykacji endofita życicy trwałej. Prowadzone badania są częścią projektu pt. Wprowadzenie na rynek innowacyjnej odmiany życicy trwałej zasiedlonej przez symbiotyczne grzyby endofityczne” realizowanego przez konsorcjum NOVA TRAWA, w ramach działania M16 „Współpraca” koordynowanego przez Agencję Restrukturyzacji i Modernizacji Rolnictwa (Program Rozwoju Obszarów Wiejskich na lata 2014 – 2020).

Endophyte eradication technology in the production of symbiotically modified grasses

Jean De Dieu Muhire¹, Dariusz Pańka², Jan Mućko³

¹ Plant Breeding Grunwald Ltd. IHAR Group, Mielno 163, 14-107 Mielno

² Bydgoszcz University of Science and Technology, Department of Plant Biology and Protection, Al. prof. S. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz

³ Bydgoszcz University of Science and Technology, Al. prof. S. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz

e-mail: mujados88@gmail.com

Grasses are plants used mainly for fodder purposes and on recreational areas. They are very often inhabited by symbiotic microorganisms. The most important are endomycorrhizal fungi *Rhizophagus* spp. and *Glomus* spp. as well as endophytes of the genus *Epichloë*. The first two penetrate the roots and develop there together with the plant. In soil, they can survive thanks to special spores. On the other hand, *Epichloë* spp. are specialized endosymbionts that grow exclusively inside the living plant, in its above-ground parts. They are transmitted vertically with grass seeds or horizontally by vegetative reproduction. The presence of these endophytes determines the plant's higher resistance to numerous stress factors, both biotic and abiotic. The associations of grasses with endophytes are usually more persistent in the environment and are more resistant to drought and soil nutrient deficiencies. They are also less susceptible to infection by pathogens and pest preying. However, grasses inhabited by endophytes can pose a threat to livestock due to the production of harmful toxins. "Safe" associations are those inhabited by selected endophytes, the so-called novel endophytes. They are used in the process of creating symbiotically modified grasses. However, the introduction of such endophytes to the plant requires prior removal of harmful, "wild" endosymbionts naturally occurring in the cultivar. The eradication process is very difficult and time-consuming. It is usually carried out with the use of fungicides or high temperature. Therefore, it is purposeful to search for new, more effective and environment friendly methods. So, research was started on the development of a new technology for eradication of grass endophytes using low-temperature plasma. Currently, work is underway to optimize the operating parameters of the plasma generator, i.e. power and exposure time. The research is conducted on perennial ryegrass of the Bajka cultivar, which consists of 13 breeding lines. Plasma treated seeds are placed on Petri dishes with PDA (Potato Dextrose Agar) medium and also are sowed in pots filled with peat substrate. The seed and plant material are subjected to microscopic and molecular analyzes to determine the effectiveness of the method used. Preliminary results indicate the possibility of using cold plasma to eradicate the perennial ryegrass endophyte. The conducted research is a part of the project: "Launching innovative cultivar of perennial ryegrass colonised by symbiotic endophytic fungi" implemented by the NOVA TRAWA consortium, under Action M16 "Cooperation" managed by the Agency for Restructuring and Modernisation of Agriculture (Rural Development Program for 2014-2020).

Antagonistyczna aktywność bakterii kwasu mlekowego przeciwko rozwojowi *Botrytis cinerea* na sałacie i szpinaku

Beata Kowalska, Magdalena Szczech

Instytut Ogrodnictwa Państwowy Instytut Badawczy, Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

e-mail: beata.kowalska@inhort.pl

Bakterie kwasu mlekowego (LAB) wykazują zdolność do hamowania wzrostu patogenów przenoszonych przez żywność, mikroorganizmów powodujących psucie się żywności, a także mikroorganizmów chorobotwórczych dla roślin (1,2). Może to być spowodowane konkurencją o składniki odżywcze i miejsca kolonizacji, jak również antybiozą poprzez produkcję różnych związków przeciwdrobnoustrojowych, w tym kwasu mlekowego. Ważne jest również, że większość bakterii kwasu mlekowego jest bezpieczna do stosowania w żywności. Cechy te sprawiają, że niektóre LAB mogą być wykorzystane do biologicznego zwalczania chorób roślin (3).

Celem pracy było zbadanie aktywności różnych szczepów LAB w ograniczaniu rozwoju *B. cinerea* i szarej pleśni na liściach sałaty i szpinaku. Zwrócono również uwagę na zanieczyszczenia mikrobiologiczne występujące na powierzchni liści, np. bakterie i grzyby pleśniowe.

Spośród ponad 100 izolatów wybrano trzy szczepy LAB, które najaktywniej hamowały wzrost *B. cinerea* w teście antagonistycznym na pożywce agarowej z dekstrozą ziemniaczaną. Następnie opracowano metodę opłaszczania izolatami LAB odciętych liści szpinaku i sałaty. Inokulum utrzymywało się na wysokim poziomie przez 8 dni i wynosiło około 10^5 i 10^6 jtk na 1g liści, odpowiednio dla szpinaku i sałaty. Dodatkowo okazało się, że liście poddane temu zabiegowi były w mniejszym stopniu zanieczyszczone grzybami pleśniowymi w porównaniu z kontrolą nietraktowaną.

W kolejnych doświadczeniach laboratoryjnych liście sałaty i szpinaku zostały opłaszczone bakteriami LAB, a następnie zakażone *B. cinerea*. Badaniom poddano trzy izolaty *B. cinerea*. Infekcję liści oceniano po 6, 10 i 15 dniach od inokulacji. Stwierdzono hamujący wpływ badanych izolatów LAB na rozwój szarej pleśni na liściach sałaty w stosunku do jednego izolatu *B. cinerea*, uzyskanego z pomidora. Wyniki te zostały potwierdzone w doświadczeniach szklarniowych na roślinach sałaty i szpinaku. Dodatkowo stwierdzono istotny wpływ LAB na wzrost szpinaku. Świeża masa roślin traktowanych tymi bakteriami była o 20-40% wyższa w porównaniu z kontrolą. Wzrost ten zależał od badanego izolatu bakterii.

Podsumowując, można stwierdzić, że rośliny sałaty i szpinaku opłaszczone bakteriami kwasu mlekowego mogą stanowić nośnik jako potencjalne źródło bakterii probiotycznych oraz dodatkowo bakterie LAB mogą chronić rośliny przed porażeniem przez *B. cinerea*.

Pracę wykonano w ramach tematu statutowego „Opracowanie metod ograniczających występowanie skażeń mikrobiologicznych owoców i warzyw przeznaczonych do bezpośredniego spożycia” finansowanego przez Ministerstwo Edukacji i Nauki (ZM/2/2018-2023).

1. Manjarres Melo JJ, Alvarez A, Ramirez C, Bolivar G (2021) Antagonistic activity of lactic acid bacteria against phytopathogenic fungi isolated from cherry tomato (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*). *Curr Microbiol* 78: 1399-1408. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02416-w>
2. Manjarres Melo J.J., Alvarez A., Ramirez C., Bolivar G. 2021. Antagonistic activity of lactic acid bacteria against phytopathogenic fungi isolated from cherry tomato (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*). *Current Microbiology* 78: 1399-1408. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02416-w>
3. Lamont JR, Wilkins O, Bywater-Ekegård M, Smith DL (2017) From yogurt to yield: Potential applications of lactic acid bacteria in plant production. *Soil Biol Biochem* 111:1-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.03.015>

Antagonistic activity of lactic acid bacteria against development of *Botrytis cinerea* on lettuce and spinach

Beata Kowalska, Magdalena Szczech

The National Institute of Horticultural Research

e-mail: beata.kowalska@inhort.pl

Lactic acid bacteria (LAB) show their potential to inhibit the growth of foodborne pathogens, spoilage microorganisms and also plant pathogenic microorganisms (1,2). It might be due to competition for nutrients and colonization sites, or antibiosis via the production of various antimicrobial compounds including lactic acid. It is important that lactic acid bacteria are generally safe for use in food. The features could also make suitable some LAB for the biological control of plant diseases (3).

The aim of the study was to examine activity of three different LAB strains in reduction of *B. cinerea* and gray mold development on lettuce and spinach leaves. Attention was also paid on the microbiological contamination present on the leaf surface, e.g. spoiled bacteria and fungi.

Three LAB strains of above 100 isolates were chosen as the most active to inhibit the growth of *B. cinerea* in antagonistic test on potato dextrose agar medium. Then, a method has been developed to coat the cut off spinach and lettuce leaves with LAB isolates. The inoculum remained high for 8 days, and ranged about 10^5 and 10^6 cfu per 1g of leaves for spinach and lettuce, respectively. It occurred that treated leaves were less contaminated by mould fungi compared to untreated control.

In the next laboratory experiments, the lettuce and spinach leaves were coated with these bacteria, and then inoculated with *B. cinerea*. Three isolates of *B. cinerea* were studied. Leaf infection was evaluated 6, 10 and 15 days after inoculation. The inhibitory effect of three LAB isolates against grey mould development on lettuce leaves was found for one isolate of *B. cinerea*, obtained from tomato. The results were confirmed in glasshouse experiments on lettuce and spinach plants. Additionally, a significant effect of LAB on spinach growth was found. The fresh weight of plants treated with these bacteria was 20-40% higher compared to control. The increase depended on the bacteria isolate tested.

In conclusion, lettuce and spinach leaves coated by lactic acid bacteria can be food matrices as potential carriers of probiotic bacteria. Additionally, LAB can protect plants against gray mold caused by *B. cinerea*.

This work was financed by Polish Ministry of Education and Science, task ZM/2/2018 (2018 -2023): "Development methods limiting the occurrence of microbiological contamination of ready-to-eat vegetables and fruit".

1. Manjarres Melo JJ, Alvarez A, Ramirez C, Bolivar G (2021) Antagonistic activity of lactic acid bacteria against phytopathogenic fungi isolated from cherry tomato (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*). *Curr Microbiol* 78: 1399-1408. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02416-w>
2. Manjarres Melo J.J., Alvarez A., Ramirez C., Bolivar G. 2021. Antagonistic activity of lactic acid bacteria against phytopathogenic fungi isolated from cherry tomato (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*). *Current Microbiology* 78: 1399-1408. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02416-w>
3. Lamont JR, Wilkins O, Bywater-Ekegård M, Smith DL (2017) From yogurt to yield: Potential applications of lactic acid bacteria in plant production. *Soil Biol Biochem* 111:1-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.03.015>

Aktywność genów SOD, PR9 oraz HSP70 pszenicy pod wpływem traktowania grzybami endofitycznymi

Katarzyna Mikołajczak¹, Lidia Błaszczuk¹

Instytut Genetyki Roślin PAN, ul. Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

e-mail: kmiko@igr.poznan.pl

Bytowanie roślin z mikroorganizmami w środowisku i ich wzajemne interakcje pozwoliły na wykształcenie wielopoziomowego układu odpornościowego pozwalającego na ograniczenie infekcji patogenów i rozwoju choroby. Pierwszą linię obrony stanowią roślinne receptory błonowe PPR wiążące się z elicytorami (cząsteczki typu MAMP/PAMP) [1]. Aktywują one kaskady sygnałowe uruchamiające odpowiedzi obronne tworzące odporność aktywowaną przez cząsteczki PAMP lub molekuly efektorowe [2]. Odpowiedzi obronne współtworzące pierwszą linię obrony obejmują m. in. produkcję aktywnych form tlenu czy aktywację genów związanych z reakcjami odpornościowymi [3].

Doświadczenie miało na celu analizę ekspresji wybranych genów pszenicy (*HSP70*, *SOD*, *PR9* – związane z reakcjami obronnymi i odpornościowymi roślin) po 14 dniach od traktowania roślin zawieszoną zarodników *F. proliferatum*, *P. olsonii*, *P. expansum*, *T. hamatum* oraz mieszaniną tych grzybów. Wyniki analizy real-time PCR pokazały znaczny spadek ekspresji genu *PR9* niezależnie od traktowania. Gen *HSP70* uległ nadekspresji w roślinach po traktowaniu *T. hamatum* i *P. expansum*, a spadek ekspresji tego genu po traktowaniu *P. olsonii*. W roślinach traktowanych mieszaniną grzybów zauważono nieznaczny wzrost ekspresji genu *HSP70*. Gen *SOD* uległ nadekspresji w roślinach traktowanych *F. proliferatum* oraz *P. expansum*. Zaobserwowano też niewielki wzrost ekspresji w roślinach traktowanych mieszaniną grzybów. Natomiast traktowanie *P. olsonii* oraz *T. hamatum* znacząco hamowało ekspresję tego genu. Wykazano, że genotyp pszenicy ma wpływ na poziom ekspresji badanych genów. W odmianach pszenicy: Arabella, Legenda, Rusałka zaobserwowano wzrost ekspresji genu *PR9* niezależnie od traktowania, w odmianie Arkadia po traktowaniu *F. proliferatum*, w odmianie Bombona po traktowaniu *F. proliferatum*, *P. olsonii*, *T. hamatum* oraz mieszaniną grzybów; a w odmianie Rospuda po traktowaniu *P. expansum*. Analizując zmiany ekspresji genu *HSP70* zaobserwowano spadek ekspresji tego genu w odmianach pszenicy: Arabella, Ostroga, Rusałka, natomiast w odmianach Kandela i Legenda zaobserwowano nadekspresję genu niezależnie od traktowania. Analizując zmiany ekspresji genu *SOD* zaobserwowano spadek ekspresji tego genu w odmianach pszenicy: Arabella, Arkadia, Bamberka, Rospuda i Rusałka, natomiast w odmianach Kandela i Legenda zaobserwowano nadekspresję genu niezależnie od traktowania.

Poziom ekspresji badanych genów zależy zarówno od genotypu pszenicy, ale też od rodzaju grzyba, którymi były rośliny traktowane.

Pracę wykonano w ramach projektu OPUS14 2017/27/B/NZ9/01591 finansowanego przez NCN

Literatura

1. Schwessinger B, Ronald PC (2012) Plant innate immunity: perception of conserved microbial signatures. *Annu Rev Plant Biol* 63: 451-482
2. Cui H, Tsuda K, Parker JE (2015) Effector-triggered immunity: from pathogen perception to robust defense. *Annual Review of Plant Biology*, 66: 487-511.
3. Ranf S (2017) Sensing of molecular patterns through cell surface immune receptors. *Curr Opin Plant Biol* 38: 68-77

The activity of wheat *SOD*, *PR9*, and *HSP70* genes under the treatment with endophytic fungi

Katarzyna Mikołajczak¹, Lidia Błaszczuk¹

Institute of Plant Genetics PAS, Strzeszyńska street 34, 60-479 Poznań

e-mail: kmiko@igr.poznan.pl

The existence of plants with microorganisms in the environment and their mutual interactions allowed for the development of a multi-level immune system that allows limiting the infection of pathogens and the development of the disease. The first line of defense is the binding of the PRR (pattern recognition receptor) receptors of the plant membrane binding to elicitors [1]. They activate signaling cascades that trigger defense responses that create PTI (PAMP triggered immunity) or ETI (effector-triggered immunity) [2]. Defensive responses that contribute to the first line of defense include producing active oxygen species or activating genes related to immune reactions [3].

The experiment was aimed at analyzing the expression of selected wheat genes (*HSP70*, *SOD*, *PR9* - associated with plant defense and immune responses) 14 days after the plants were treated with a suspension of *F. proliferatum*, *P. olsonii*, and *P. expansum*, *T. hamatum* spores, and a mixture of these fungi. The results of the real-time PCR analysis showed a significant decrease in *PR9* gene expression regardless of the treatment. The *HSP70* gene was overexpressed in plants after treatment with *T. hamatum* and *P. expansum*, and the expression of this gene decreased after treatment with *P. olsonii*. In plants treated with the mixture of fungi, a slight increase in the expression of the *HSP70* gene was observed. The *SOD* gene was overexpressed in plants treated with *F. proliferatum* and *P. expansum*. A slight increase in expression was also observed in the plants treated with the mixture of fungi. However, treatment with *P. olsonii* and *T. hamatum* significantly inhibited the expression of this gene., it was shown that the wheat genotype influences the expression level of the studied gene. In wheat cultivars: Arabella, Legenda, and Rusałka an increase in *PR9* gene expression were observed regardless of treatment, in the Arkadia cultivar after treatment with *F. proliferatum*, in the Bombona cultivar after treatment with *F. proliferatum*, *P. olsonii*, *T. hamatum* and a mixture of fungi; in cv. Rospuda after treatment with *P. expansum*. When analyzing changes in *HSP70* gene expression, a decrease in the expression of this gene was observed in wheat cultivars: Arabella, Ostroga, and Rusałka, while in the cultivars Kandela and Legenda gene overexpression was observed regardless of treatment. When analyzing changes in the expression of the *SOD* gene, a decrease in the expression of this gene was observed in wheat cultivars: Arabella, Arkadia, Bamberka, Rospuda, and Rusałka, while in the cultivars Kandela and Legenda gene overexpression was observed regardless of treatment. The expression level of the study's genes depends both on the wheat genotype and the species of fungi with which the plants were treated.

This research was funded by the Polish National Science Centre (project OPUS14 No. 2017/27/B/NZ9/01591)

References:

1. Schwessinger B, Ronald PC (2012) Plant innate immunity: perception of conserved microbial signatures. *Annu Rev Plant Biol* 63: 451-482
2. Cui H, Tsuda K, Parker JE (2015) Effector-triggered immunity: from pathogen perception to robust defense. *Annual Review of Plant Biology*, 66: 487-511.
3. Ranf S (2017) Sensing of molecular patterns through cell surface immune receptors. *Curr Opin Plant Biol* 38: 68-7

Potencjał grzybów endofitycznych w ochronie i stymulacji rozwoju roślin pszenicy, na przykładzie grzybów z rodzaju *Sarocladium*

Sylwia Salamon¹, Katarzyna Mikołajczak¹, Karolina Gromadzka², Agnieszka Waśkiewicz³, Lidia Błaszczuk¹

¹ Instytut Genetyki Roślin PAN, Zakład Mikrobiomiki Roślin, ul. Strzeszyńska 34, 60-479, Poznań

² Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Chemii, ul. Wojska Polskiego 75, 60-625, Poznań

e-mail: ssal@igr.poznan.pl

Grzyby endofityczne to mikroorganizmy zasiedlające wewnętrzne części roślin, nie wywołujące przy tym negatywnych dla gospodarza skutków. Przeciwnie, wśród tej grupy grzybów obserwuje się mikroorganizmy wykazujące niejednokrotnie pozytywny wpływ na zasiedlaną roślinę. Pszenica zwyczajna jest bogatym źródłem endofitów, które mają potencjał do wykorzystania w biologicznej ochronie roślin [1-3]. Analiza struktury mikrobiomu roślin pszenicy ujawniła mnogość grzybów endofitycznych ją zamieszkujących. Wykazano także, że grzyby z rodzaju *Sarocladium* stanowią podstawę mikrobiomu pszenicy [4]. Celem pracy była charakterystyka *Sarocladium strictum* oraz *Sarocladium sp.* - szczepów wyizolowanych z endosfery pszenicy zwyczajnej oraz oszacowanie ich wpływu na gospodarza.

Wytypowano 16 endogennych szczepów, które poddano analizie biochemicznej, w celu identyfikacji metabolitów wtórnych przez nie produkowanych. W warunkach *in vitro* sprawdzono wzajemne relacje trzech reprezentantów *Sarocladium sp.* z grzybami z rodzaju *Fusarium* - głównymi patogenami pszenicy. Wykonano ponadto analizę parametrów morfologicznych i fizjologicznych, a także sprawdzono transkryptom pszenicy po inokulacji z badanymi endofitami.

Wykazano m.in. , że 75 % analizowanych szczepów produkuje pirrocydynę A, a 25% także pirrocydynę B, które uważane są za inhibitory biosyntezy fumonizyn produkowanych przez *Fusarium sp.* Zaobserwowano jednak, że *Sarocladium sp.* są również producentami toksyn takich jak eniatyna A1, czy bowerycyna. Wykryto ponadto zmiany transkryptomu pszenicy pod wpływem zastosowanych inokulacji, które obejmowały głównie różnice w ilości transkryptów zaangażowanych w procesy metaboliczne, komórkowe i w odpowiedź na bodźce. Uzyskane wyniki pozwolą lepiej zrozumieć rolę endogennych *Sarocladium sp.* w rozwoju pszenicy zwyczajnej oraz określić jej przydatność do wykorzystania w biologicznej ochronie roślin.

Pracę wykonano w ramach projektu 2017/27/B/NZ9/01591 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

Literatura

1. Larran, S., Simon, M. R., Moreno, M. V., Siurana, M. S., & Perelló, A. (2016) Endophytes from wheat as biocontrol agents against tan spot disease. *Biological control*, 92, 17-23.
2. Rojas, E. C., Jensen, B., Jørgensen, H. J., Latz, M. A., Esteban, P., Ding, Y., & Collinge, D. B. (2020) Selection of fungal endophytes with biocontrol potential against *Fusarium* head blight in wheat. *Biological Control*, 144, 104222.
3. Błaszczuk, L., Salamon, S., & Mikołajczak, K. (2021) Fungi Inhabiting the Wheat Endosphere. *Pathogens*, 10(10), 1288.
4. Salamon S., Mikołajczak K., Żok J., Błaszczuk L. Constellation of the endophytic mycobiome in spring and winter wheat cultivars grown under various conditions – w przygotowaniu

The potential of endophytic fungi in protecting and promoting wheat plants development, on the basis of *Sarocladium* fungi

Sylwia Salamon¹, Katarzyna Mikołajczak¹, Karolina Gromadzka², Agnieszka Waśkiewicz³, Lidia Błaszczuk¹

¹ Institute of Plant Genetics PAS, Department of Plants Microbiomics, Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

² Poznan University of Life Sciences, Department of Chemistry, , Wojska Polskiego 75, 60-625 Poznań

e-mail: ssal@igr.poznan.pl

Endophytic fungi are microorganisms colonizing the internal parts of plants without causing negative effects on their hosts. Among this group of fungi, some microorganisms may introduce benefits to colonized plants. Common wheat is an abundant source of endophytes, which have the potential to be used in biological plant protection [1-3]. Analysis of the structure of the microbiome of wheat plants revealed a large group of endophytic fungi. It has also been shown that fungi of the *Sarocladium* genus form the core of the wheat microbiome [4]. This study aimed to characterize *Sarocladium strictum* and *Sarocladium* sp. - strains isolated from the endosphere of common wheat and to assess their impact on the host wheat plants.

Sixteen endogenous strains were selected and subjected to biochemical analysis to identify secondary metabolites produced by them. Mutual relations between three representatives of *Sarocladium* sp. and *Fusarium* fungi, which are the main wheat pathogens, were checked under *in vitro* conditions. Moreover, the analysis of morphological and physiological parameters was performed, and the transcriptome of wheat after inoculation with the studied endophytes was evaluated.

It was observed, that 75% of the analyzed strains produce pyrrocidin A, and 25% of them also pyrrocidin B, which are considered to be inhibitors of fumonisin biosynthesis produced by *Fusarium* sp. However, it was observed that *Sarocladium* sp. are producers of toxins such as eniatin A1 and beauvericin, as well. Moreover, changes in the wheat transcriptome were detected under the applied inoculations, which mainly included differences in the number of transcripts involved in metabolic and cellular processes and response to stimuli. The obtained results will provide a better understanding of the role of endogenous *Sarocladium* sp. in wheat development and determine its suitability for use in biological plant protection.

This research was funded by the Polish National Science Centre (project No. projektu 2017/27/B/NZ9/01591).

References

1. Larran, S., Simon, M. R., Moreno, M. V., Siurana, M. S., & Perelló, A. (2016) Endophytes from wheat as biocontrol agents against tan spot disease. *Biological control*, 92, 17-23.
2. Rojas, E. C., Jensen, B., Jørgensen, H. J., Latz, M. A., Esteban, P., Ding, Y., & Collinge, D. B. (2020) Selection of fungal endophytes with biocontrol potential against Fusarium head blight in wheat. *Biological Control*, 144, 104222.
3. Błaszczuk, L., Salamon, S., & Mikołajczak, K. (2021) Fungi Inhabiting the Wheat Endosphere. *Pathogens*, 10(10), 1288.
4. Salamon S., Mikołajczak K., Żok J., Błaszczuk L. Constellation of the endophytic mycobiome in spring and winter wheat cultivars grown under various conditions – w przygotowaniu

Zmiany klimatu, a nowe potencjalne zagrożenia dla lasów środkowo-europejskich

Katarzyna Patejuk¹, Anna Baturó-Cieśniewska², Wojciech Pusz¹, Agata Kaczmarek-Pieńczywska¹, Amelia Piegoń³, Wiesław Fałtynowicz⁴

¹ Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Katedra Ochrony Roślin, pl. Grunwaldzki 24A, 50-363 Wrocław, Polska

² Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich; Wydział Rolnictwa i Biotechnologii; Katedra Biologii i Ochrony Roślin; ul. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz, Polska

³ Biuro Urządzania Lasu i Geodezji Leśnej, ul. Wysockiego 46a, 37-700 Przemyśl, Polska

⁴ Samodzielny naukowiec, emerytowany profesor Uniwersytetu Wrocławskiego

email: katarzyna.patejuk@upwr.edu.pl

Zmiany klimatu ciągną za sobą różnorodne konsekwencje w wielu dziedzinach życia. Zwiększająca się średnia temperatura powietrza, zaburzenia w ilości opadów oraz zmniejszająca się pokrywa śnieżna zimą to problemy z którymi już dziś borykają się leśnicy i sadownicy. Jednym z wyzwań z którymi przyjdzie się zmierzyć w najbliższej przyszłości są migracje gatunków, w tym patogenów roślin, wpływających na populacje rodzimych gatunków roślin, osłabionych przez długo utrzymujące się susze i inne czynniki abiotyczne. Tendencje te są obserwowane już dziś, poprzez wystąpienia gatunków grzybów charakterystycznych dla basenu Morza Śródziemnego. Podczas badań w siedliskach leśnych, przeprowadzonych na terenie całej Polski w latach 2017-2021 odnotowano obecność trzech rzadkich taksonów dla Środkowej Europy: *Biscogniauxia nummularia*, *Biscogniauxia mediterranea* i *Cryptosporiopsis tarraconensis*. Niniejsze opracowanie stanowi podsumowanie tych badań i ocenę potencjalnego znaczenia wykrytych patogenów dla drzew w Środkowej Europie na przestrzeni najbliższych lat.

New potential threats to Central European forests as an effect of climate change

Katarzyna Patejuk¹, Anna Baturó-Cieśniewska², Wojciech Pusz¹, Agata Kaczmarek-Pieńczyńska¹, Amelia Piegdoń³, Wiesław Fałtynowicz⁴

¹ Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Katedra Ochrony Roślin, pl. Grunwaldzki 24A, 50-363 Wrocław, Polska

² Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich; Wydział Rolnictwa i Biotechnologii; Katedra Biologii i Ochrony Roślin; ul. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz, Polska

³ Biuro Urządzania Lasu i Geodezji Leśnej, ul. Wysockiego 46a, 37-700 Przemyśl, Polska

⁴ Samodzielny naukowiec, emerytowany profesor Uniwersytetu Wrocławskiego

email: katarzyna.patejuk@upwr.edu.pl

Climate change has multiple consequences in many areas of human life. Already today foresters and farmers struggle with effects of increasing average temperature, disturbances in the precipitation and decreasing snow cover. The migration of species is one of the challenges to be faced in the near future. That includes increasing the range of plant pathogens, affecting populations of native plant species, weakened by long-term droughts and other abiotic factors. These tendencies are already observed today through the occurrence of fungal species characteristic of the Mediterranean basin in Central Europe. The research were carried out in forest habitats throughout Poland in 2017-2021. The study uncovered the presence of three rare taxa in Central Europe: *Biscogniauxia nummularia*, *Biscogniauxia mediterranea* and *Cryptosporiopsis tarraconensis*. The aim of this presentation is to summarize these studies and assesses the potential importance of the detected pathogens to trees in Central Europe over the next few years.

Krótkie prezentacje ustne posterów

Pochodzenie i struktura defektywnych cząsteczek RNA wirusa czarnej pierścieniowej plamistości pomidora (TBRV)

Daria Budzyńska¹, Julia Minicka¹, Agnieszka Taberska¹, Beata Hasiów-Jaroszewska¹

¹Instytut Ochrony Roślin-Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Wirusologii i Bakteriologii, ul. Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznań, Polska

e-mail: D.Budzynska@iorpib.poznan.pl

Wirus czarnej pierścieniowej plamistości pomidora (*Tomato black ring virus*, TBRV) należy do rodzaju *Nepovirus*, rodziny *Secoviridae* i poraża szeroki zakres roślin, w tym gatunki gospodarczo ważne, ozdobne, krzewy i drzewa. Genom wirusa tworzą dwie jednoniciowe cząsteczki RNA o polarności dodatniej (+ssRNA). Genomowym cząsteczkom RNA TBRV mogą towarzyszyć defektywne RNA (D RNA). Cząsteczki te nie kodują białka i powstają na skutek pojedynczej lub serii delecji w genomie wirusa macierzystego. Wcześniejsze badania pozwoliły stwierdzić, że D RNA TBRV mają długość 335-570 nt, mogą pochodzić zarówno z RNA1, jak i RNA2 TBRV, a ich indukcja następuje *de novo* podczas pasażowania wirusa w jednym gospodarzu [1-4]. D RNA wpływają na akumulację wirusa pomocniczego, symptomy infekcji na porażonych wirusem roślinach oraz stopień przenoszenie TBRV z nasionami różnych gatunków roślin [3,5]. Celem niniejszej pracy była analiza wpływu temperatury oraz zmiany gospodarza na powstawanie D RNA. W pierwszym doświadczeniu izolaty TBRV pochodzące z sałaty, pomidora i robinii akacjowej pasażowano 15 razy w komosie ryżowej, tytoniu, ogórku i pomidorze. Doświadczenie prowadzono w dwóch temperaturach: 18°C i 26°C. W drugim doświadczeniu izolaty TBRV pochodzący z pomidora pasażowano w trzech liniach ewolucyjnych zgodnie ze schematem tytoń (5 pasaży) / komosa (5 pasaży) / tytoń (5 pasaży) / komosa (5 pasaży). Równocześnie izolaty pasażowano 20 razy z uwzględnieniem losowości doboru gospodarza (każda z linii ewolucyjnych była pasażowana przez inny, zmieniający się zestaw roślin testowych). Następnie z każdej nowopowstałej linii ewolucyjnej otrzymano w gradiencie sacharozy preparaty oczyszczone wirusa, izolowano RNA wirusa i otrzymany materiał analizowano pod względem obecności addytywnych RNA. W przypadku niektórych linii ewolucyjnych zaobserwowano obecność dodatkowych cząsteczek RNA o długości ~500 nt. Wstępne wyniki pozwoliły stwierdzić, iż zarówno temperatura jak i dobór gospodarza mogą mieć wpływ na powstawanie D RNA.

Pracę wykonano w ramach projektów 2017/25/B/NZ9/01715 i 2018/31/N/NZ9/02985 finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki.

Literatura

1. Hasiów-Jaroszewska B, Borodynko N, Figlerowicz M, Pospieszny H (2012) Two types of defective RNAs arising from the tomato black ring virus genome. *Arch Virol* 157: 569–572.
2. Rymelska N, Borodynko N, Pospieszny H, Hasiów-Jaroszewska B (2013) Analysis of the biological and molecular variability of the Polish isolates of Tomato black ring virus (TBRV) *Virus Genes* 47: 338–346.
3. Hasiów-Jaroszewska B, Minicka J, Zarzyńska-Nowak A, Budzyńska D, Elena SF (2018) Defective RNA particles derived from Tomato black ring virus genome interfere with replication of parental virus. *Virus Res* 250: 87–94.
4. Budzyńska D, Minicka J, Hasiów-Jaroszewska B, Elena SF (2020) Molecular evolution of tomato black ring virus and *de novo* generation of a new type of defective RNAs during long-term passaging in different hosts. *Plant Pathol* 69: 1767–1776.
5. Pospieszny H, Hasiów-Jaroszewska B, Borodynko-Filas N, Elena SF (2020) Effect of defective interfering RNAs on the vertical transmission of Tomato black ring virus. *Plant Protect Sci* 56: 261–267.

Origin and structure of defective RNA particles associated with tomato black ring virus

Daria Budzyńska¹, Julia Minicka¹, Agnieszka Taberska¹, Beata Hasiów-Jaroszewska¹

¹Institute of Plant Protection-National Research Institute, Department of Virology and Bacteriology, ul. Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznań, Polska

e-mail: D.Budzyńska@iorpib.poznan.pl

Tomato black ring virus is a member of *Nepovirus* genus (family *Secoviridae*) infecting wide range of economically-important crops, ornamental plants, trees and shrubs. Viral genome consists of two +ssRNA particles. The genomic RNAs of TBRV can be associated with subviral, defective RNAs (D RNAs). D RNAs are derived from viral RNA by single or multiply deletions and do not encode any protein. Previous research showed that D RNAs associated with TBRV genome have 335-570 nt in length, may arise both from RNA1 and RNA2, and are generated *de novo* during prolonged passages of the virus in one host [1-4]. D RNAs can modulate helper virus accumulation, symptoms on infected plants and their presence may affect TBRV seed transmission [3, 5]. In this study, impact of temperature and between-host transmission on the D RNAs TBRV induction were investigated. Two different experiments were carried on. In first experiment, TBRV isolates from tomato, lettuce and black locust were passaged 15 times through four hosts: quinoa, tobacco, cucumber and tomato. Plants were grown in greenhouse conditions at 18°C and 26°C. In second experiment, between-host transmission of TBRV isolate originated from tomato was performed. Firstly, TBRV isolate were passaged in tobacco (5 passages) /quinoa (5 passages) /tobacco (5 passages) /quinoa (5 passages). Simultaneously, TBRV was passaged 20 times through randomly chosen hosts. The setup of plants was different in each lineage. After passages the purified virus preparations were prepared in sucrose gradient and the RNA viral profile was analyzed. The presence of potential D RNA particles about ~500 nt was observed in some lineages. Preliminary results showed that both host plant and temperature may affect D RNAs formation.

This research was funded by the Polish National Science Centre 2017/25/B/NZ9/01715 and 2018/31/N/NZ9/02985.

References

1. Hasiów-Jaroszewska B, Borodynko N, Figlerowicz M, Pospieszny H (2012) Two types of defective RNAs arising from the tomato black ring virus genome. *Arch Virol* 157: 569–572.
2. Rymelska N, Borodynko N, Pospieszny H, Hasiów-Jaroszewska B (2013) Analysis of the biological and molecular variability of the Polish isolates of Tomato black ring virus (TBRV) *Virus Genes* 47: 338–346.
3. Hasiów-Jaroszewska B, Minicka J, Zarzyńska-Nowak A, Budzyńska D, Elena SF (2018) Defective RNA particles derived from Tomato black ring virus genome interfere with replication of parental virus. *Virus Res* 250: 87–94.
4. Budzyńska D, Minicka J, Hasiów-Jaroszewska B, Elena SF (2020) Molecular evolution of tomato black ring virus and *de novo* generation of a new type of defective RNAs during long-term passaging in different hosts. *Plant Pathol* 69: 1767–1776.
5. Pospieszny H, Hasiów-Jaroszewska B, Borodynko-Filas N, Elena SF (2020) Effect of defective interfering RNAs on the vertical transmission of Tomato black ring virus. *Plant Protect Sci* 56: 261–267.

Biostymulatory - związki inne niż pestycydy. Wpływ induktorów odporności, BTH i jego pochodnych, na przeciwwirusowe mechanizmy obronne roślin

Patryk Frackowiak¹, Aleksandra Obrępańska-Stęplowska¹

¹ Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Biologii Molekularnej i Biotechnologii, ul. Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznań

e-mail: p.frackowiak@iorpib.poznan.pl

W celu ograniczenia straty w plonach powodowanych przez patogeny oraz szkodniki stosuje się różne klasy pestycydów. Jednakże przeciw wirusom roślinnym nie zostały dotychczas odkryte dedykowane środki ochrony roślin. Aby ograniczyć zniszczenia towarzyszące rozprzestrzeniającej się infekcji wirusowej stosuje się prewencje, takie jak niszczenie chorych roślin czy przeciwdziałanie wektorom wirusowym.

Jedną z możliwości walki z wirusami roślinnymi jest wykorzystanie naturalnych systemów obronnych rośliny [1]. W tym celu wykorzystuje się między innymi biostymulatory roślin, jak związki z rodzaju benzotiadiazoli (BTH). Prewencyjne traktowanie roślin wspomnianymi środkami prowadzi do indukcji ekspresji genów związanych z mechanizmami odpornościowymi roślin i przygotowuje je do ewentualnego pojawienia się wirusa w środowisku [2]. W związku z ograniczeniem wykorzystania pestycydów w rolnictwie, intensywniej zaczęto przyglądać się biostymulatorom, dzięki czemu powstały również nowe substancje dostępne na rynku. Jednym z nich jest cholinowa ciecz jonowa będąca pochodną BTH [3].

W prezentowanych badaniach skupiono się na porównaniu wpływu BTH oraz jego pochodnej cholinowej cieczy jonowej na indukcję odporności w roślinach pomidora w dwóch punktach czasowych oraz podczas infekcji wirusem mozaiki pomidora (tomato mosaic virus, ToMV). W tym celu wykorzystano technikę sekwencjonowania następnej generacji (NGS RNA-Seq). Wykorzystane biostymulatory wpłynęły istotnie na ekspresję markerów odporności związanych ze szlakami kwasu salicylowego (SA) oraz jasmonowego (JA). Szczegółowa analiza bioinformatyczna wskazała również na znaczące zmiany w ekspresji genów związanych z procesami transkrypcji, fotosyntezy, detoksyfikacji oraz fosforylacji świadcząc o ich znaczącym wpływie na mechanizmy przeciwwirusowe aktywowane w roślinach pomidora podczas infekcji wirusowej pod wpływem zastosowania obu biostymulatorów. Otrzymane wyniki stanowią wprowadzenie do szczegółowych analiz mechanizmów działania biostymulatorów z rodzaju benzotiadiazoli i mogą w przyczynić się do ich szerszego stosowania w przyszłości.

Pracę wykonano w ramach projektu OPUS nr: UMO-2015/17/B/NZ9/01676 finansowanego przez NCN.

Literatura

1. Pospieszny H (2017) Systemic Acquired Resistance (SAR) in integrated plant protection. *Progress in Plant Protection* 56:436–442. <https://doi.org/10.14199/ppp-2016-068>
2. Frackowiak P, Pospieszny H, Smiglak M, Obrępańska-Stęplowska A (2019) Assessment of the efficacy and mode of action of benzo(1,2,3)-thiadiazole-7-carbothioic acid s-methyl ester (bth) and its derivatives in plant protection against viral disease. *International Journal of Molecular Sciences* 20:. <https://doi.org/10.3390/ijms20071598>
3. Smiglak M, Kukawka R, Lewandowski P, et al (2016) New Dual Functional Salts Based on Cationic Derivative of Plant Resistance Inducer - Benzo[1.2.3]thiadiazole-7-carbothioic Acid, S-Methyl Ester. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering* 4:3344–3351. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b00398>

Biostimulants - compounds other than pesticides. Effect of resistance inducers, BTH and its derivatives, on plant's antiviral defence mechanisms

Patryk Frackowiak¹, Aleksandra Obrępańska-Stęplowska¹

¹Institute of Plant Protection – National Research Institute, Department of Molecular Biology and Biotechnology, Władysława Wegorka 20 st., 60-318 Poznań

e-mail: p.frackowiak@iorpib.poznan.pl

To limit yield losses caused by pathogens and pests, different classes of pesticides are used. However, no dedicated plant protection products have been discovered against plant viruses so far. To limit the damage associated with the spread of viral infection, prevention is used, such as the removal of diseased plants or viral vectors.

One of the possibilities for fighting plant viruses is to use the natural defence systems of the plant [1]. For this purpose, plant resistance inducers, such as benzothiadiazole (BTH), are being used. Preventive treatment of plants with these agents leads to the induction of gene expression associated with the immune mechanisms of plants and prepares them for the possible occurrence of the virus in the environment [2]. Due to the reduction in the use of pesticides in agriculture, resistance inducers have been considered and analysed more intensively, thanks to which new substances have also been created. One of them is a choline ionic liquid that is a derivative of BTH [3].

The presented study focused on comparing the effect of BTH and its choline ionic liquid derivative on the induction of immunity in tomato plants at two-time points after treatment and during tomato mosaic virus (ToMV) infection. For this purpose, the next-generation sequencing technique (NGS RNA-Seq) was used. The resistance inducers used significantly influenced the expression of resistance marker genes associated with the salicylic acid (SA) and jasmonic (JA) pathways. Detailed bioinformatics analysis also indicated significant changes in gene expression associated with transcription, photosynthesis, detoxification and phosphorylation processes, indicating their significant impact on the antiviral mechanisms activated in tomato plants during viral infection under the influence of both biostimulants. The obtained results are an introduction to detailed analyses of the mechanisms of action of the benzothiadiazole and may contribute to their wider use in the future.

This research was funded by the National Science Centre (Poland), project OPUS (No. UMO-2015/17/B/NZ9/01676).

References:

1. Pospieszny H (2017) Systemic Acquired Resistance (SAR) in integrated plant protection. *Progress in Plant Protection* 56:436–442. <https://doi.org/10.14199/ppp-2016-068>
2. Frackowiak, P, Pospieszny H, Smiglak M, Obrępańska-Stęplowska A (2019) Assessment of the efficacy and mode of action of benzo(1,2,3)-thiadiazole-7-carbothioic acid s-methyl ester (bth) and its derivatives in plant protection against viral disease. *International Journal of Molecular Sciences* 20:. <https://doi.org/10.3390/ijms20071598>
3. Smiglak M, Kukawka R, Lewandowski P, et al (2016) New Dual Functional Salts Based on Cationic Derivative of Plant Resistance Inducer - Benzo[1.2.3]thiadiazole-7-carbothioic Acid, S-Methyl Ester. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering* 4:3344–3351. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b00398>

Ekspresja wybranych genów odporności na suchą zgniliznę kapustnych u mieszańców oddalonych z rodzaju *Brassica*.

Ewa Starosta¹, Justyna Szwarz¹, Izabela Pawłowicz², Janetta Niemann¹,

¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Genetyki i Hodowli Roślin, ul. Dojazd 11, 60-632 Poznań

² Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, ul. Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

e-mail: ewa.starosta@up.poznan.pl

Sucha zgnilizna kapustnych, powodowana przez patogen grzybowy *Leptosphaeria spp.*, stanowi poważne zagrożenie dla roślin z rodzaju *Brassica* [1–3]. Strategie zwalczania tej choroby opierają się między innymi na hodowli odmian odpornych rzepaku (*Brassica napus* L.), posiadających geny odporności pionowej. Źródłami tych genów mogą być genotypy dzikie lub rośliny blisko spokrewnione z rodzaju *Brassica*. Metodą umożliwiającą introgresję cech odporności jest krzyżowanie oddalone [4, 5].

Ekspresję genów odporności (*Rlm3*, *Rlm4*, *Rlm7*) na suchą zgniliznę kapustnych analizowano u wybranych mieszańców oddalonych z rodzaju *Brassica* i genotypów rodzicielskich (łącznie 54 genotypy). W celu określenia poziomu transkrypcji genów testowanych roślin zastosowano technikę RT-qPCR. Wysoką ekspresją analizowanych genów odporności charakteryzowały się nieliczne genotypy mieszańców oddalonych pokolenia F₁. Nie znaleziono zależności pomiędzy ekspresją genów odporności u genotypów rodzicielskich i analizowanych mieszańców oddalonych. Niniejsza analiza stanowiła wstępną selekcję genotypów do dalszych badań.

Pracę wykonano w ramach projektu MRiRW, zadanie nr 27.

Literatura

1. W. Fernando, X. Zhang, and C. Amarasinghe, "Detection of *Leptosphaeria maculans* and *Leptosphaeria biglobosa* Causing Blackleg Disease in Canola from Canadian Canola Seed Lots and Dockage," *Plants*, vol. 5, no. 1, p. 12, 2016, doi: 10.3390/plants5010012.
2. M. H. Rashid, S. Liban, X. Zhang, P. Parks, H. Borhan, and W. G. D. Fernando, "Impact of *Brassica napus*–*Leptosphaeria maculans* interaction on the emergence of virulent isolates of *L. maculans*, causal agent of blackleg disease in canola," *Plant Pathol.*, vol. 70, no. 2, pp. 459–474, 2020, doi: 10.1111/ppa.13293.
3. H. R. Kutcher, F. Yu, and H. Brun, "Improving blackleg disease management of *Brassica napus* from knowledge of genetic interactions with *Leptosphaeria maculans*," *Can. J. Plant Pathol.*, vol. 32, no. 1, pp. 29–34, 2010, doi: 10.1080/07060661003620961.
4. Niemann Janetta, Oleander Magdalena, Wojciechowski Andrzej, and Tomkowiak Agnieszka, "Interspecific hybridization between *Brassica napus* and *Brassica rapa ssp. chinensis* genotypes through embryo rescue and their evaluation for crossability," *BioTechnologia*, vol. 96, no. 2, pp. 184–191, 2015.
5. Kathe Elvis, Quezada-Martines Daniela, Ihien -Kathe Elizabeth, and Vasquez-Teuber Pula, "Interspecific Hybridization for *Brassica* Crop Improvement," *Crop Breeding, Genet. Genomics*, 2019, doi: 10.20900/cbagg20190007.

Analysis of selected blackleg resistance gene expression in *Brassica* interspecific hybrids

Ewa Starosta¹, Justyna Szwarc¹, Izabela Pawłowicz², Janetta Niemann¹,

¹ Poznan University of Life Science, Department of Plant Genetics and Breeding, ul. Dojazd 11, 60-632 Poznań

² Institute of Plant Genetics Polish Academy of Sciences, ul. Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

e-mail: ewa.starosta@up.poznan.pl

Blackleg, caused by a fungal pathogen *Leptosphaeria spp.*, is a serious threat to *Brassica* crop species [1–3]. Strategies of blackleg disease protection rely, among others, on canola resistance breeding (*Brassica napus* L.). Wild types and closely related species prove to be valuable sources of disease resistance genes. Gene introgression is possible through interspecific hybridization method [4, 5].

Expression of blackleg resistance genes (*Rlm3*, *Rlm4*, *Rlm7*) was analyzed in *Brassica* interspecific hybrids and parental genotypes (54 genotypes overall). RT-qPCR technique was used to assess the level of gene expression. Few of the analyzed F₁ hybrids were characterized by high expression levels of studied resistance genes. No correlation of resistance gene expression levels between interspecific hybrids and parental genotypes was noted. Current study is a preliminary assessment and selection of genotypes intended for further analysis.

This research was conducted as part of project funded by Ministry of Agriculture and Rural Development, assignment No. 27.

References

1. W. Fernando, X. Zhang, and C. Amarasinghe, "Detection of *Leptosphaeria maculans* and *Leptosphaeria biglobosa* Causing Blackleg Disease in Canola from Canadian Canola Seed Lots and Dockage," *Plants*, vol. 5, no. 1, p. 12, 2016, doi: 10.3390/plants5010012.
2. M. H. Rashid, S. Liban, X. Zhang, P. Parks, H. Borhan, and W. G. D. Fernando, "Impact of *Brassica napus*–*Leptosphaeria maculans* interaction on the emergence of virulent isolates of *L. maculans*, causal agent of blackleg disease in canola," *Plant Pathol.*, vol. 70, no. 2, pp. 459–474, 2020, doi: 10.1111/ppa.13293.
3. H. R. Kutcher, F. Yu, and H. Brun, "Improving blackleg disease management of *Brassica napus* from knowledge of genetic interactions with *Leptosphaeria maculans*," *Can. J. Plant Pathol.*, vol. 32, no. 1, pp. 29–34, 2010, doi: 10.1080/07060661003620961.
4. Niemann Janetta, Oleander Magdalena, Wojciechowski Andrzej, and Tomkowiak Agnieszka, "Interspecific hybridization between *Brassica napus* and *Brassica rap ssp. chinensis* genotypes through embryo rescue and their evaluation for crossability," *BioTechnologia*, vol. 96, no. 2, pp. 184–191, 2015.
5. Kathe Elvis, Quezada-Martines Daniela, Ihien -Kathe Elizabeth, and Vasquez-Teuber Pula, "Interspecific Hybridization for *Brassica* Crop Improvement," *Crop Breeding, Genet. Genomics*, 2019, doi: 10.20900/cbgg20190007.

Wykrywanie utajonych infekcji jabłek powodowanych przez grzyby rodzaju *Monilinia* z wykorzystaniem techniki LAMP

Anna Poniatowska, Monika Michalecka, Joanna Puławska

Instytut Ogrodnictwa – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Ochrony Roślin, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

e-mail: anna.poniatowska@inhort.pl

Brunatna zgnilizna drzew ziarnkowych, powodowana przez grzyby rodzaju *Monilinia*, występuje corocznie z różnym nasileniem w sadach jabłoniowych. Często objawy choroby rozwijają się jednak i później – w przechowalniach, w handlu, a nawet u konsumenta. Z tego też względu istnieje potrzeba opracowania szybkiej i czułej metody wykrywania sprawców choroby w bezobjawowo porażonych owocach. W tym celu zaprojektowano zestaw starterów do reakcji LAMP w oparciu o fragment genu kodującego białka szoku termicznego grzybów rodzaju *Monilinia* porażających jabłko, tj.: *M. fructigena*, *M. fructicola* i *M. polystroma*. Reakcję LAMP optymalizowano w oparciu o DNA referencyjnych szczepów grzybów, sztucznie zakażonych jabłek z objawami brunatnej zgnilizny drzew ziarnkowych, jednocześnie testując selektywność metody w stosunku do izolatów innych grzybów patogenicznych dla jabłek oraz w reakcji z DNA owoców jabłoni. W celu zwiększenia czułości detekcji przed reakcją LAMP zastosowano preamplifikację docelowego DNA. Walidację metody przeprowadzono w reakcjach z DNA pochodzącym z jabłek naturalnie zainfekowanych przez grzyby rodzaju *Monilinia*, dla których identyfikację gatunkową przeprowadzono w oparciu o cechy morfologiczno-rozwojowe kultur i metodą multiplex PCR (Poniatowska i in., 2021) [1]. Materiał do badań stanowiły jabłka odmiany Topaz zainokulowane zawiesinami zarodników trzech badanych gatunków grzybów rodzaju *Monilinia*, które przechowywano w warunkach chłodniczych oraz w temperaturze pokojowej. Ze skórki jabłek przechowywanych w temperaturze pokojowej codziennie izolowano DNA aż do momentu wystąpienia objawów chorobowych. W przypadku jabłek przechowywanych w warunkach chłodniczych próby skórki do izolacji pobierano w odstępach kilkudniowych. Kontrolę stanowił DNA uzyskany ze skórki jabłek niezakażonych oraz jabłek traktowanych fungicydem. Zastosowana metoda umożliwiła wykrycie wszystkich gatunków *Monilinia* spp. w czasie 24 h od sztucznej inokulacji w przypadku jabłek przechowywanych w temperaturze pokojowej i w czasie 72 h w przypadku jabłek przechowywanych w warunkach chłodniczych. Czułość wykrywania DNA wszystkich trzech badanych gatunków grzybów w reakcji LAMP wynosiła 2 pg. Zastosowana preamplifikacja DNA przed reakcją LAMP znacznie zwiększała czułość wykrywania DNA grzybów rodzaju *Monilinia* do 0,1 pg. Badanie to dowodzi, że opracowana metoda LAMP może być stosowana do wykrywania grzybów rodzaju *Monilinia* w bezobjawowo porażonych jabłkach.

Pracę wykonano w ramach projektu FITOEXPORT (Gospostrateg1/385957/5/NCBR/2018) finansowanego przez NCBiR.

Literatura

1. Poniatowska A, Michalecka M, Puławska J, 2021. Phylogenetic relationships and genetic diversity of *Monilinia* spp. isolated in Poland based on housekeeping- and pathogenicity-related gene sequence analysis. *Plant Pathology* 70: 1640–1650.

Detection of latent infections of apples caused by fungi of the *Monilinia* genus using the LAMP technique

Anna Poniatowska, Monika Michalecka, Joanna Puławska

The National Institute of Horticultural Research, Department of Plant Protection, Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice, Poland

e-mail: anna.poniatowska@inhort.pl

Brown rot caused by fungi belonging to the genus *Monilinia* occurs annually with various severity in apple orchards. Often, the symptoms of the disease develop even later - in storages, in the trade or at the consumer. Therefore, there is a need to develop a quick and sensitive method of detecting of disease causal agents in asymptotically infected fruit. For this purpose, a set of primers for the LAMP reaction was designed based on a fragment of the gene encoding heat shock proteins of *Monilinia* fungi pathogenic to apple: *M. fructigena*, *M. fructicola* and *M. polystroma*. The LAMP reaction was optimized based on the DNA of reference fungal strains, artificially infected apples with symptoms of brown rot, and the selectivity of the assay was tested with the DNA of isolates of other apple pathogenic fungi and with apple fruit DNA. In order to increase the sensitivity of detection before the LAMP reaction, preamplification of the target DNA was applied. The method was validated in reactions with DNA from apples naturally infected by *Monilinia* fungi, for which species identification was carried out on the basis of morphological characteristics and the multiplex PCR (Poniatowska et al., 2021) [1]. The research material consisted of apples of the Topaz cultivar inoculated with spore suspensions of three studied species of *Monilinia* fungi, stored under refrigerated conditions and at room temperature. DNA was isolated daily from apple peel of fruits stored at room temperature until disease symptoms appeared. In the case of apples stored under refrigeration conditions, the peel was sampled at several days intervals. The control combination was DNA obtained from the peel of uninfected apples and apples treated with fungicide. The method which was used allowed for detection of all *Monilinia* spp. within 24 hours of artificial inoculation in the case of apples stored at room temperature, while within 72 hours in the case of apples stored under refrigerated conditions. The sensitivity of DNA detection in the LAMP assay for the DNA of all three tested species of fungi was 2 pg. The DNA preamplification made before the LAMP reaction significantly increased the sensitivity of *Monilinia* DNA detection to 0.1 pg. This study shown that the developed LAMP method can be used to detect *Monilinia* fungi in asymptotically infected apples.

This research was performed within the FITOEXPORT Project (Gospostrateg1/385957/5/NCBR/2018), financed from the National Center for Research and Development.

References

1. Poniatowska A, Michalecka M, Puławska J, 2021. Phylogenetic relationships and genetic diversity of *Monilinia* spp. isolated in Poland based on housekeeping- and pathogenicity-related gene sequence analysis. *Plant Pathology* 70: 1640–1650.

Wykrywanie i identyfikacja wirusów infekujących paprykę w Polsce

Julia Minicka¹, Agnieszka Taberska¹, Daria Budzyńska¹, Natasza Borodynko-Filas¹, Karolina Kaźmińska², Grzegorz Bartoszewski², Beata Hasiów-Jaroszewska¹

¹Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Wirusologii i Bakteriologii, ul. Wł. Węgorka 20, 60-318 Poznań

²Szkoła Główna Gospodarstwa Wielkiego w Warszawie, Katedra Genetyki Hodowli i Biotechnologii Roślin, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

e-mail: j.minicka@iorpib.poznan.pl

Choroby wirusowe są jednym z głównych czynników ograniczających uprawę *Capsicum annum* L. na całym świecie. Jak dotąd zidentyfikowano ponad 45 gatunków wirusów, które porażają paprykę, powodując znaczne straty w jakości i ilości plonu, sięgające w niektórych przypadkach nawet 80% ilości plonu [1]. Najczęściej w uprawach papryki na całym świecie obserwowana jest obecność wirusa mozaiki ogórka (cucumber mosaic virus, CMV), wywołującego zróżnicowane objawy, zależne od odmiany gospodarza, szczepu wirusa, czasu infekcji oraz warunków wzrostu roślin [2].

W latach 2020-2021 w Zakładzie Wirusologii i Bakteriologii IOR-PIB analizowano występowanie wirusów porażających paprykę w Polsce. Próbki pochodziły głównie z sieci handlowych, jak również z poletka doświadczalnego Katedry Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin SGGW w Warszawie. Badano owoce, charakteryzujące się zmianami w postaci: silnych deformacji, nierównomiernego wybarwienia się owoców, nekroz na powierzchni skórki oraz chlorotycznych i nekrotycznych pierścieni na owocach. Łącznie przebadano 30 próbek owoców papryki słodkiej czerwonej i zielonej za pomocą reakcji RT-PCR, pod kątem obecności następujących gatunków wirusów: wirus mozaiki ogórka (cucumber mosaic virus, CMV), wirus łagodnej pstrości papryki (pepper mild mottle virus, PMMoV), wirus brązowej plamistości pomidora (tomato spotted wilt virus, TSWV) oraz wirus Y ziemniaka (potato virus Y, PVY). Wykazano, że owoce papryki są porażane przez liczne wirusy, zarówno w pojedynczych, jak i mieszanych infekcjach, a dominującym gatunkiem jest wirus mozaiki ogórka. Ponadto jedną próbkę, charakteryzującą się nietypowymi objawami chorobowymi poddano sekwencjonowaniu wysokoprzepustowemu i wykazano obecność dwóch nowych wirusów na terenie Polski: bell pepper endornavirus (BPEV) oraz pepper cryptic virus (PCV) w mieszanej infekcji z PMMoV. Chociaż żaden z tych wirusów nie stanowi bezpośredniego zagrożenia dla upraw papryki, ich obecność może powodować zmiany fizjologii żywiciela, związane z kiełkowaniem nasion, czy zawartością chlorofilu [3].

Badania realizowano w ramach tematu statutowego Instytutu Ochrony Roślin – Państwowego Instytutu Badawczego nr WIB01 „Wykorzystanie nowoczesnych metod molekularnych w diagnostyce patogenów roślin”.

Literatura

1. Waweru BW, Kilalo DC, Miano DW, Kimenju JW, Rukundo P (2019) Diversity and economic importance of viral diseases of pepper (*Capsicum* spp.) in Eastern Africa. *J Applied Horticulture* 21(1): 70–76.
2. Kenyon L, Kumar S, Tsai W-S, d'A Hughes J (2014) Chapter Six - Virus Diseases of Peppers (*Capsicum* spp.) and Their Control. *Advances in Virus Res.* 90: 297–354.
3. Escalante C, Valverde RA (2019) Morphological and physiological characteristics of endornavirus-infected and endornavirus-free near-isogenic lines of bell pepper (*Capsicum annum*). *Sci. Hort.* 250: 104–112.

Detection and identification of viruses infecting peppers in Poland

Julia Minicka¹, Agnieszka Taberska¹, Daria Budzyńska¹, Natasza Borodynko-Filas¹, Karolina Kaźmińska², Grzegorz Bartoszewski², Beata Hasiów-Jaroszewska¹

¹Institute of Plant Protection – National Research Institute, Department of Virology and Bacteriology, Wł. Węgorka 20, 60-318 Poznan, Poland

²Warsaw University of Life Sciences, Department of Plant Genetics, Breeding and Biotechnology, Nowoursynowska 159, 02-776 Warsaw, Poland

e-mail: j.minicka@iorpib.poznan.pl

Viral diseases are one of the main limiting factors in the cultivation of pepper (*Capsicum annum* L.) worldwide. More than 45 virus species that infect peppers have been identified so far, causing significant losses in quality and quantity of crop ranging in some cases even 80% of the yield [1]. Cucumber mosaic virus (CMV) is the most frequently observed virus on pepper crops around the world, causing different symptoms depending on the host variety, virus strain, time of infection and growth conditions [2].

In 2020-2021 in the Department of Virology and Bacteriology IPP-NRI, the presence of viruses infecting pepper in Poland was analysed. The samples originated from large supermarkets as well as from the experimental field of the Department of Plant Genetics, Breeding and Biotechnology of the Warsaw University of Life Sciences. Different type of symptoms were observed on fruits: strong deformation, uneven fruit staining, necrosis on the surface of the fruits, as well as chlorotic and necrotic rings. A total of 30 samples of red and green sweet pepper fruits were tested by RT-PCR for the presence of following virus species: cucumber mosaic virus (CMV), pepper mild mottle virus (PMMoV), tomato spotted wilt virus (TSWV) and potato virus Y (PVY). It has been observed that peppers are infected with numerous viruses, both in single and mixed infections, with the predominance of CMV. In addition, one sample, characterized by unusual symptoms, was subjected to high throughput sequencing and the presence of two new viruses: bell pepper endornavirus (BPEV) and pepper cryptic virus (PCV) in mixed infection with PMMoV was established. Although none of these two viruses pose a direct threat to pepper cultivation, their presence may cause changes in the host's physiology related to seed germination or chlorophyll content [3].

This research was carried out as part of the statutory topic of the Institute of Plant Protection – National Research Institute no. WIB01 "The use of modern molecular methods in the diagnosis of plant pathogens".

References

1. Waweru BW, Kilalo DC, Miano DW, Kimenju JW, Rukundo P (2019) Diversity and economic importance of viral diseases of pepper (*Capsicum* spp.) in Eastern Africa. *J Applied Horticulture* 21(1): 70–76.
2. Kenyon L, Kumar S, Tsai W-S, d'A Hughes J (2014) Chapter Six - Virus Diseases of Peppers (*Capsicum* spp.) and Their Control. *Advances in Virus Res.* 90: 297–354.
3. Escalante C, Valverde RA (2019) Morphological and physiological characteristics of endornavirus-infected and endornavirus-free near-isogenic lines of bell pepper (*Capsicum annum*). *Sci. Hort.* 250: 104–112.

Ocena zdrowotności zieleni na wybranych skwerach w Warszawie – wstępna analiza fitopatologiczna i zalecenia w zakresie zarządzania

Marek S. Szyndel¹, Kinga Kimic², Ewa Mirzwa Mróz¹

¹Zakład Fitopatologii, Katedra Ochrony Roślin, Instytut Nauk Ogrodniczych, SGGW w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

²Katedra Architektury Krajobrazu, Instytut Inżynierii Środowiska, SGGW w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

e-mail: marek_szyndel@sggw.edu.pl

Nieduże skwery, stanowiące ważne ogniwa miejskiej zielonej infrastruktury, to obszary pozytywnie wpływające na jakość życia mieszkańców miast. Drzewa i krzewy są podstawowymi elementami zagospodarowania tych przestrzeni. Dlatego konieczne jest, aby utrzymanie ich w dobrej kondycji traktowane było priorytetowo. Jednym ze sposobów wspomagania procesu zarządzania terenami zieleni jest monitoring roślin obejmujący rozpoznawanie objawów chorób powołanych przez grzyby, a następnie zapobieganie rozprzestrzenieniu się tych patogenów. Celem pracy było przeprowadzenie w latach 2017-2019 wstępnej identyfikacji grzybów porażających drzewa i krzewy rosnące na 4 skwerach zlokalizowanych w dzielnicach śródmiejskich Warszawy (Skwer Sibiraków, Skwer im. Mieczysława Dawida Apfelbauma, Skwer im. generała Jan Jura-Gorzechowskiego, Skwer im. Sue Ryder). Patogeny grzybowe wykryto na 111 z przebadanych 889 drzew i krzewów. Najczęściej obserwowano objawy mączniaków prawdziwych na klonach (zwyczajnym, tatarskim i jesionolistnym), topolach, dębach, kasztanowcach, magnoliach, jabłoniach, gruszach oraz krzewach berberysu. Zidentyfikowano następujące gatunki grzybów z rzędu *Erysiphales*: *Sawadea tulasnei*, *Sawadea bicornis*, *Erysiphe adunca*, *Erysiphe berberidis*, *Erysiphe japonicae*, *Erysiphe flexuosa*, *Erysiphe alphitoides*, *Erysiphe magnifica* i *Podosphaera leucotricha*. Ponadto patogeny powodujące plamki na liściach i uszkodzenia liści zidentyfikowano jako *Venturia inaequalis* na *Malus* sp. i *Malus x purpurea* 'Ola' oraz *Rhytisma acerinum* na *Acer platanoides*. Na liściach i pędach *Populus nigra* 'Italica' wykryto rdzę powodowaną przez *Melampsora laricis-populina*, a na gruszach (*Pyrus communis*) rdzę powodowaną przez *Gymnosporangium sabine* (*Pucciniales*). Na pniach topoli czarnej i klonu tatarskiego znaleziono owocniki bocznika *Pleurotus ostreatus*. Opracowano zalecenia i rekomendacje dla kompleksowego zarządzania zielenią na terenach skwerów obejmujące działania związane z prawidłowym planowaniem nasadzeń roślin (wprowadzanie zdrowego materiału roślinnego, dobór gatunków, bioróżnorodność), ich utrzymaniem i ochroną, a także zasadami postępowania z martwym materiałem roślinnym, jak i wskazania służące edukacji i podnoszeniu świadomości społecznej o wartościach zdrowych roślin.

Health assessment of greenery in selected green squares in Warsaw - preliminary phytopathological analysis and management recommendations

Marek S. Szyndel¹, Kinga Kimic², Ewa Mirzwa Mróz¹

¹ Div. Plant Pathology, Department of Plant Protection, Institute of Horticultural Sciences, Warsaw University of Life Sciences – SGGW, Nowoursynowska Street 159, 02-776 Warsaw, Poland

² Department of Landscape Architecture, Institute of Environmental Engineering, Warsaw University of Life Sciences – SGGW, Nowoursynowska Street 159, 02-776 Warsaw, Poland

e-mail: marek_szyndel@sggw.edu.pl

Squares, which are important elements of urban green infrastructure, have positive impact on the quality of life and well-being of city dwellers. Trees and shrubs are the keystone structures of those spaces, therefore it is imperative that keeping them in good condition is given priority. Monitoring of plants strongly support the modern management of urban green areas mostly by recognizing the symptoms of fungal diseases, and then to prevent the spread of these pathogens. Preliminary investigations on the health status related to fungal diseases of trees and shrubs growing in four green squares located in central districts of Warsaw (Siberian Square, Mieczysław Dawid Apfelbaum Square, general Jan Jura-Gorzechowski Square, and Sue Ryder Square) were conducted in 2017–2019. On a total of 889 trees and shrubs examined 111 were infected by fungal pathogens. Among the most frequently identified diseases commonly affected plants in all studied squares were: powdery mildew (causal agents: *Sawadaea tulasnei*, *S. bicornis*, *Podosphaera leucotricha*, *Podosphaera* sp., *Erysiphe alphitoides*, *E. magnifica*, *E. berberidis*, *E. flexuosa* and *E. adunca*), rusts (*Gymnosporangium sabiniae*, *Melampsora laricis-populina*), apple scab (*Venturia inaequalis*), tar spot of maple (*Rhytisma acerinum*), and oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). The main and comprehensive management recommendations for trees and shrubs growing on green squares in Warsaw were formulated, and they include activities as follow: proper planning of planting (implementation of healthy plant material, species selection, biodiversity), continuous plant maintenance and treatment, systematic monitoring and control of plant diseases, implementation of the rules for dealing with dead plant material, as well as education and increasing the public awareness on the value of healthy plants.

***Botrytis cinerea* patogen borówki wysokiej**

Malwina Pluta, Elżbieta Płaskowska, Elżbieta Gębarowska, Krzysztof Matkowski

Uniwersytet Przyrodniczy, Katedra Ochrony Roślin, pl. Grunwaldzki 24a, 50-363 Wrocław

e-mail: elzbieta.plaskowska@upwr.edu.pl

Borówka wysoka (*Vaccinium corymbosum* L.) nazwana jest często borówką amerykańską lub jagodą amerykańską. Jedną z chorób przyczyniającą się do znacznych strat plonu jest szara pleśń powodowana przez *Botrytis cinerea* Pers. Wczesną wiosną młode i niezdrewniałe wierzchołki pędów stają się brunatne i zamierają. Charakterystycznym objawem porażenia pędów jest ich pastorałowate wygięcie. W późniejszym okresie porażone fragmenty stają się szarosrebrne [1]. Najczęściej infekowane są kwiaty, które stają się wodniste, później brunatnieją i zamierają. Porażone kwiaty stają się źródłem infekcji dla owoców. Na zielonych owocach tworzą się wodniste, fioletowe plamy. Do zakażenia dojrzałych owoców dochodzi przez resztki okwiatów zasiedlonych przez grzyba podczas deszczowej pogody [2]. Patogen może zostać w fazie utajonej do czasu przechowywania, gdzie przy sprzyjających warunkach grzyb może się rozwinąć na zdrowo wyglądających owocach [3].

W latach 2016-2017 prowadzono w województwie dolnośląskim badania zdrowotności dwóch odmian borówki wysokiej Duke i Liberty (w fazie bezlistnej, pełnego kwitnienia, zielonych zawiązków owoców i pełnej dojrzałości owoców). Badaniami objęto 30 kolejno rosnących krzewów w rzędzie, w 4 powtórzeniach. Określono średni procent zamierających pędów, kwiatów w kwiatostanach oraz gnijących zawiązków owoców i dojrzałych owoców. Wykonano również analizy mykologiczne badanych organów. Pobrano również do badań kwiaty i zawiązków owoców niewykazujące objawów chorobowych. Organy te pozostawiano na okres 6 dni w wilgotnych komorach w temperaturze pokojowej.

Z wiosennej oceny porażenia pędów w stanie bezlistnym przez *B. cinerea* wynika, że znacznie więcej pędów zbrunatniałych obserwowano u odmiany Liberty. Z kolei u odmiany Duke stwierdzono większą liczbę pędów, na których grzyb zarodnikował. Średni procent zamierających kwiatów u obydwu odmian był podobny i wynosił 12%. Zawiązki owoców odmiany Duke były silniej zainfekowane niż Liberty. W przypadku owoców dojrzałych sytuacja była odwrotna. Analiza mykologiczną wykazała, że kwiaty odmiany Liberty były silniej zasiedlone przez *B. cinerea* niż Duke. Natomiast procentowy udział *B. cinerea* w ogólnej liczbie wyizolowanych grzybów z zawiązków owoców i owoców dojrzałych był u obydwu odmian zbliżony. Z analizy pozornie zdrowych kwiatów i zawiązków owoców wynika, że kwiaty były silnie zasiedlone przez *B. cinerea*, na poziomie 50%. Natomiast zawiązki owoców w bardzo małym stopniu – 2%.

Literatura

1. Dzięcioł R., 2008. Choroby grzybowe borówki wysokiej. W: Karwowska H. (red.), 2008. Borówka wysoka: jak rozpoznać choroby, szkodniki i niewłaściwe nawożenie. Wyd. Oficyna Botanica, Kraków: 30–35.
2. Prodorutti D., Pertot I., Giongo L., Gessler C., 2007. Highbush blueberry: cultivation, protection, breeding and biotechnology. Eur. J. Plant Sci. Biotechnol. 1 (1): 44–56.
3. Romanazzi G., Smilanick J. L., Feliziani E., Droby S., 2016. Integrated management of postharvest gray mold on fruit crops. Postharvest Biol. Tec. 113: 69–76.

***Botrytis cinerea* pathogen of highbush blueberry**

Malwina Pluta, Elżbieta Płaskowska, Elżbieta Gębarowska, Krzysztof Matkowski

Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Department of Plant Protection, pl.
Grunwaldzki 24a, 50-363 Wrocław

e-mail: elzbieta.plaskowska@upwr.edu.pl

Highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) is often called American blueberry or bilberry. One of the diseases that contribute to significant yield losses is grey mould caused by *Botrytis cinerea* Pers. In early spring, young and non-woody shoot tips turn brown and die. A characteristic symptom of the infected shoots is a pastoral bend. Later on, the infected parts turn grey-silver [1]. Most often, flowers are infected, which become watery, later turn brown and die. Infected flowers become a source of infection for the fruit. Watery, purple spots form on green fruit. Infection of mature fruit occurs through the remains of perianths colonised by the fungus during rainy weather [2]. The pathogen can remain in the latent phase until storage, where under favourable conditions the fungus can develop on healthy-looking fruit [3].

In 2016-2017, healthiness studies of two highbush blueberry cultivars Duke and Liberty (at leafless, full flowering, green fruit set and full fruit maturity stages) were conducted in the Lower Silesia Province. The study covered 30 successively growing shrubs in a row, in 4 replications. The average percentage of dying shoots, flowers in inflorescences, rotting fruit buds and ripe fruit was determined. Mycological analyses of the examined organs were also performed. Flowers and fruit buds not showing disease symptoms were also collected for examination. These organs were left for 6 days in humid chambers at room temperature.

The spring evaluation of the infestation of shoots in leafless state by *B. cinerea* showed that significantly more browned shoots were observed in Liberty cultivar. On the other hand, a higher number of shoots on which the fungus had sprouted was found in the cultivar Duke. The average percentage of dying flowers in both cultivars was similar and amounted to 12%. The fruit buds of Duke were more strongly infected than Liberty. For ripe fruit, the situation was the opposite. Mycological analysis showed that flowers of Liberty cultivar were more strongly infested by *B. cinerea* than Duke. However, the percentage of *B. cinerea* in the total number of fungi isolated from fruit set and ripe fruit was similar in both cultivars. The analysis of apparently healthy flowers and fruit buds showed that flowers were strongly colonized by *B. cinerea*, at the level of 50%. Fruit buds, on the other hand, were infested to a very low degree - 2%.

References

1. Dzięcioł R., 2008. Choroby grzybowe borówki wysokiej. W: Karwowska H. (red.), 2008. Borówka wysoka: jak rozpoznać choroby, szkodniki i niewłaściwe nawożenie. Wyd. Oficyna Botanica, Kraków: 30–35.
2. Prodorutti D., Pertot I., Giongo L., Gessler C., 2007. Highbush blueberry: cultivation, protection, breeding and biotechnology. Eur. J. Plant Sci. Biotechnol. 1 (1): 44–56.
3. Romanazzi G., Smilanick J. L., Feliziani E., Droby S., 2016. Integrated management of postharvest gray mold on fruit crops. Postharvest Biol. Tec. 113: 69–76.

Reakcja 10 odmian jęczmienia jarego na porażenie kłosów przez *Fusarium sporotrichioides* Sherb. z uwzględnieniem zawartości mykotoksyn w ziarnie

Elżbieta Mielniczuk¹, Elżbieta Patkowska¹, Kinga Stuper-Szablewska², Anna Przybylska-Balcerek²

¹Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Katedra Ochrony Roślin, ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin, Poland

²Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Chemii, ul. Wojska Polskiego 75, 60-625 Poznań

e-mail: elzbieta.mielniczuk@up.lublin.pl

Jęczmień jest trzecim zbożem pod względem powierzchni uprawy zbóż w Polsce. Wykorzystywany jest głównie na cele paszowe, ale także do produkcji żywności, w tym kasz i płatków. Fuzarioza kłosów zbóż i zanieczyszczenie ziarna toksycznymi metabolitami grzybów jest jednym z ważnych problemów rolnictwa w Polsce i na świecie. Jednym ze sposobów ograniczania występowania *Fusarium* spp. oraz zawartości mykotoksyn w ziarnie jest uprawa odmian najmniej podatnych na porażenie kłosów przez te grzyby.

Wzrastająca częstotliwość zasiedlania ziarna zbóż przez toksynotwórczy gatunek *Fusarium sporotrichioides*, skłoniła do podjęcia prezentowanych badań, których celem było określenie szkodliwości tego grzyba dla 10 odmian jęczmienia jarego.

Badania wykonano w latach 2018 - 2020 roku, doświadczenie infekcyjne przeprowadzono na polach gospodarstwa doświadczalnego UP w Lublinie zlokalizowanych w Czestawicach koło Nałęczowa, w województwie lubelskim. Natomiast analizy chemiczne dotyczące zawartości ergosterolu oraz mykotoksyn w ziarnie zostały wykonane w 2020 roku w Katedrze Chemii UP w Poznaniu. Badaniami objęto 10 odmian jęczmienia jarego: Farmer, Kormoran, Oberek, Polonia Staropolska, Promyk, Radek, Ramzes, Skarb, Suveren i Teksas, pochodzących z Hodowli Roślin Strzelce, Sp. z o. o., grupa IHAR oraz szczep *F. sporotrichioides* nr 127. Kłosa jęczmienia były inokulowane w fazie kwitnienia zawieszoną konidialną analizowanego szczepu grzyba. Ocenę szkodliwości *F. sporotrichioides* dla kłosów wybranych odmian jęczmienia jarego przeprowadzono na podstawie analizy takich parametrów jak: zmniejszenie liczby ziarniaków w kłosie, redukcja masy tysiąca ziaren oraz plonu ziarna w porównaniu z kontrolą, a także zawartości ergosterolu oraz mykotoksyn w ziarnie.

Przeprowadzone badania wykazały, że średnia redukcja plonu ziarna dla wszystkich badanych odmian, po trzech latach badań, w porównaniu z kontrolą wynosiła 27,6%. Najmniejszą obniżkę plonu ziarna jęczmienia jarego zanotowano w przypadku odmian Skarb i Teksas, która wynosiła odpowiednio 16,95 i 17,7%. Natomiast największą obniżkę plonu ziarna w porównaniu z kontrolą stwierdzono u odmiany Farmer – 49,9%.

Badania chemiczne ziarniaków pochodzących z kłosów sztucznie zakażanych *F. sporotrichioides* wykazały obecność ergosterolu w stężeniu od 12,5 (Radek) do 47,2 mg/kg (Skarb). Stwierdzono również obecność związków trichotecenowych z grupy A w ziarnie badanych odmian jęczmienia jarego po inokulacji kłosów przez *F. sporotrichioides*. Największą zawartość HT-2 toksyny stwierdzono u odmiany Suveren - 0,078 mg/kg. Ponadto w ziarnie badanych odmian jęczmienia wykryto obecność scirpentriolu (STO) (0,000 - 0,024 mg/kg), T-2 tetraolu (0,000 - 0,003 mg/kg), oraz diacetoksyscirpenolu (DAS) (0,000 - 0,006 mg/kg).

Reaction of 10 spring barley cultivars to *Fusarium sporotrichioides* Sherb. infection and mycotoxin concentrations in grain

Elżbieta Mielniczuk¹, Elżbieta Patkowska¹, Kinga Stuper-Szablewska², Anna Przybylska-Balcerek²

¹ University of Life Sciences in Lublin, Department of Plant Protection, Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin, Poland

² University of Life Sciences in Poznań, Department of Chemistry, Wojska Polskiego 75, 60-625 Poznań, Poland

e-mail: elzbieta.mielniczuk@up.lublin.pl

Barley is the third largest cereal crop in Poland. It is used mainly for fodder purposes, but also for the production of food, including groats and flakes. *Fusarium* head blight and contamination of cereals with toxic fungal metabolites are one of the particularly important problems in global agriculture.

The increasingly frequent isolation of *F. sporotrichioides* from cereal grain encouraged us to conduct the present research. The aim of the study was to determine the harmfulness of *F. sporotrichioides* in relation to 10 spring barley cultivars.

The studies were conducted during 3 years (2018-2020), the field experiment was carried out in the fields of the experimental farm of the University of Life Sciences in Lublin, located in Czesławice near Nałęczów (Lublin province). On the other hand, chemical analyzes of the content of ergosterol and mycotoxins in grain were performed in 2020 at the Department of Chemistry of the University of Life Sciences in Poznań. The research covered 10 cultivars of spring barley: Farmer, Kormoran, Oberek, Polonia Staropolska, Promyk, Radek, Ramzes, Skarb, Suveren and Teksas, originating from Hodowla Roślin Strzelce, Sp. z o. o., group IHAR and *F. sporotrichioides* strain No. 127. Barley heads were inoculated with a conidial suspension of *F. sporotrichioides* during the flowering stage. The evaluation of the harmfulness of *F. sporotrichioides* to heads of selected spring barley cultivars was carried out on the basis of the parameters, such as: reduction in the number of kernels per head, 1000 kernels weight and grain yield compared to control, and also on the basis of ergosterol and mycotoxin content in grain.

The conducted research showed that the average of grain yield reduction after heads inoculation with *F. sporotrichioides*, compared to control, for all tested cultivars during three years of research, was 27.6%. The lowest reduction in spring barley grain yield was recorded in the case of Skarb and Teksas cultivars, which amounted to 16.95 and 17.7%, respectively. On the other hand, the highest reduction in grain yield, as compared to control, was found in Farmer variety - 49.9%.

Chemical analysis of kernels from heads inoculated with *F. sporotrichioides* showed the presence of ergosterol in the concentration from 12.5 (Radek) to 47.2 mg/kg (Skarb). Chemical analysis also showed the presence of type A trichothecenes in the grain of the studied spring barley cultivars after heads inoculation with *F. sporotrichioides*. The highest content of HT-2 toxin was found in cultivar Suveren - 0.078 mg/kg. In addition, the presence of scirpentriol (STO) (0.000 - 0.024 mg/kg), T-2 tetraol (0.000 - 0.003 mg/kg) and diacetoxyscirpenol (DAS) (0.000 - 0.006 mg/kg) were found in the grain of spring barley cultivars.

Inhibicja wzrostu *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Alternaria solani* przez bakterie izolowane z gleb Spitsbergenu

Małgorzata Majewska¹, Agnieszka Hanaka², Katarzyna Kopec¹, Monika Kaniewska¹

¹ Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, Instytut Nauk Biologicznych, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

² Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Fizjologii Roślin i Biofizyki, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

e-mail: malgorzata.majewska@mail.umcs.pl

Biologiczna ochrona roślin opiera na wykorzystaniu czynników pochodzenia biologicznego do ograniczania wzrostu i rozwoju mikroorganizmów fitopatogenicznych i bazuje na naturalnych interakcjach występujących w środowisku [1-2]. Celem przeprowadzonych badań było oszacowanie potencjału fungistatycznego bakterii pochodzących z gleb Spitsbergenu, których przynależność gatunkową określono na podstawie testów biochemicznych API20NE [3]. Przetestowano wpływ bakterii należących do rodzajów: *Achromobacter* (1 izolat), *Aeromonas* (1 izolat), *Alcaligenes* (1 izolat), *Burkholderia* (3 izolaty), *Ochromobactrum* (2 izolaty), *Pantoea* (1 izolat), *Pseudomonas* (19 izolatów), *Serratia* (4 izolaty) i *Stenotrophomonas* (1 izolat) na wzrost *Fusarium oxysporum* IOR2129, *Botrytis cinerea* IOR2235 i *Alternaria solani* IOR2046 na agarze odżywczym stosując metodę hodowli dwuorganizmowych oraz prowadząc hodowle tych grzybów na agarze odżywczym uzupełnionym płynem po hodowli bakterii w stosunku 1:1.

Podczas 7-dniowej hodowli wzrost kolonii *F. oxysporum* został istotnie ograniczony przez równoczesny wzrost *P. luteola* 11, 12 i 13. Pozostałe izolaty nie miały istotnego wpływu na rozrost jego kolonii. Najsilniejszą redukcję średnicy kolonii *A. solani* i *B. cinerea* zaobserwowano podczas hodowli z *S. plymuthica* 1 (60-70%) i *A. denitrificans* (55-60%). *B. cepacia* 1 (61%) i *P. putida* 1 (61%) istotnie hamowały wzrost *A. solani*, a *P. luteola* 18 (70%), *S. liquefaciens* 3 (63%) i *P. luteola* 16 (56%) wzrost *B. cinerea*. Sąsiedztwo *B. cepacia* 3 stymulowało *B. cinerea* do formowania kolonii o 55% większych niż kontrola. Podobną sytuację obserwowano w hodowli *A. solani* z *P. luteola* 4 i 6 lub *B. cepacia* 2. Bakteryjne płyny pohodowlane zawierające w swoim składzie różnorodne metabolity wprowadzone do agaru odżywczego redukowały średnicę kolonii *F. oxysporum* maksymalnie o 40%. Wzrost *A. solani* i *B. cinerea* był całkowicie zahamowany przez metabolity *P. luteola* 2, 4, 8, 9, 11 oraz *P. fluorescens* 7. W przypadku pozostałych izolatów należących do gatunku *P. luteola* i *A. faecalis* redukcja średnicy kolonii grzybowych mieściła się w granicach od 10% do 60%.

Możemy wnioskować, że metabolity bakteryjne zawarte w płynach pohodowlanych były silniejszym czynnikiem fungistatycznym niż bakterie namnażające się równocześnie z grzybem w hodowlach dwuorganizmowych.

Literatura

4. Grzyb A, Warczevska Z, Niewiadomska A, Wolna-Maruwka A (2019) Czym są biopreparaty i jakie jest ich zastosowanie? *Nauka Przyroda Technologie* 13(2): 1–12.
5. Lisiecki K, Lemańczyk G, Juda M, Koczwara K (2014) Mikroorganizmy jako alternatywa dla konwencjonalnej ochrony roślin przed chorobami. W *Nauka nie jedno ma imię*, tom II, red. J. Flizikowski, str. 111–124, Wydawnictwa Uczelniane Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego, Bydgoszcz.
6. Hanaka A, Ozimek E, Majewska M, Rysiak A, Jaroszuk-Ścisiel J (2019) Physiological diversity of Spitsbergen soil microbial communities suggests their potential as plant growth-promoting bacteria, *Inter J Mol Sci* 20: 2–26.

Growth inhibition of *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* and *Alternaria solani* by bacteria isolated from Spitsbergen soils

Małgorzata Majewska¹, Agnieszka Hanaka², Katarzyna Kopec¹, Monika Kaniewska¹

¹ Maria Curie-Skłodowska University, Institute of Biological Sciences, Department of Industrial and Environmental Microbiology, Akademicka 19, 20-033 Lublin

² Maria Curie-Skłodowska University, Institute of Biological Sciences, Department of Plant Physiology and Biophysics, Akademicka 19, 20-033 Lublin

e-mail: malgorzata.majewska@mail.umcs.pl

Biological protection of plants is based on the application of biological factors to limit the growth of phytopathogenic microorganisms employing natural interactions occurring in the environment [1-2]. The aim of the research was to estimate the fungistatic potential of bacteria from the Spitsbergen soils, the species of which were determined by biochemical API20NE tests [3]. The effect of bacteria belonging to the genera: *Achromobacter* (1 isolate), *Aeromonas* (1 isolate), *Alcaligenes* (1 isolate), *Burkholderia* (3 isolates), *Ochromobactrum* (2 isolates), *Pantoea* (1 isolate), *Pseudomonas* (19 isolates), *Serratia* (4 isolates) and *Stenotrophomonas* (1 isolate) on the growth of *Fusarium oxysporum* IOR2129, *Botrytis cinerea* IOR2235 i *Alternaria solani* IOR2046 had been studied using two methods, two-organism cultures on nutrient agar and the fungal cultures on nutrient agar supplemented with the spent medium (1:1 ratio) obtained following the growth of bacteria.

During the 7-day cultivation, the growth of the *F. oxysporum* colony was significantly limited by the simultaneous growth of *P. luteola* 11, 12 and 13. The other isolates had no significant influence on the growth of its colony. The strongest reduction in the diameter of *A. solani* and *B. cinerea* colonies was observed during cultivation with *S. plymuthica* 1 (60-70%) and *A. denitrificans* (55-60%). *B. cepacia* 1 (61%) and *P. putida* 1 (61%) significantly inhibited the growth of *A. solani*, while *P. luteola* 18 (70%), *S. liquefaciens* 3 (63%) and *P. luteola* 16 (56%) – growth of *B. cinerea*. The vicinity of *B. cepacia* 3 stimulated *B. cinerea* to form 55% larger colonies than the control ones. A similar situation was observed in the culture of *A. solani* with *P. luteola* 4, *P. luteola* 6 and *B. cepacia* 2. Bacterial spent media containing various metabolites introduced into nutrient agar reduced the colony diameter of *F. oxysporum* up to 40%. The *A. solani* and *B. cinerea* growth was completely inhibited by the metabolites of *P. luteola* 2, 4, 8, 9, 11 and *P. fluorescens* 7. In the case of the other isolates belonging to *P. luteola* and *A. faecalis* species, the reduction in the diameter of fungal colonies ranged from 10% to 60%.

We concluded that the bacterial metabolites present in the spent media were stronger fungistatic factors than the bacteria cells that proliferated simultaneously with the fungus in two-organism cultures.

References

1. Grzyb A, Warczewska Z, Niewiadomska A, Wolna-Maruwka A (2019) Czym są biopreparaty i jakie jest ich zastosowanie? *Nauka Przyroda Technologie* 13(2): 1–12.
2. Lisiecki K, Lemańczyk G, Juda M, Koczwarą K (2014) Mikroorganizmy jako alternatywa dla konwencjonalnej ochrony roślin przed chorobami. W *Nauka nie jedno ma imię*, tom II, red. J. Flizikowski, str. 111–124, Wydawnictwa Uczelniane Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego, Bydgoszcz.
3. Hanaka A, Ozimek E, Majewska M, Rysiak A, Jaroszuk-Ściseł J (2019) Physiological diversity of Spitsbergen soil microbial communities suggests their potential as plant growth-promoting bacteria, *Inter J Mol Sci* 20: 2–26.

Ocena skuteczności substancji podstawowych i biopreparatów w hamowaniu suchej zgnilizny w uprawie pieczarki

Joanna Szumigaj-Tarnowska, Joanna Augustyniak, Zbigniew Uliński

Instytut Ogrodnictwa - PIB, Zakład Uprawy i Nawożenia Roślin Ogrodniczych,
Pracownia Uprawy Warzyw i Grzybów Jadalnych, Ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice
e-mail: joanna.tarnowska@inhort.pl

Polska jest europejskim liderem w produkcji pieczarki dwuzarodnikowej *Agaricus bisporus*. Obecnie świadomość konsumentów dotycząca wpływu żywności na ludzkie zdrowie wywiera nacisk na produkcję pieczarki ekologicznej. Uprawa pieczarki jest wymagającym, wieloetapowym procesem, który odbywa się w klimatyzowanych halach w warunkach wysokiej wilgotności i temperatury. Pieczarka ekologiczna, uprawiana bez środków ochrony roślin, jest szczególnie narażona na pojawianie się chorób grzybowych, które są przyczyną dużych strat plonu. Jedną z najczęściej występujących w uprawie chorób grzybowych jest sucha zgnilizna wywoływana przez *Lecanicillium fungicola* [1]. Zatem badanie wpływu nowych substancji podstawowych i preparatów biologicznych dopuszczonych do stosowania w produkcji ekologicznej na rozwój patogenów jest niezwykle ważne [2, 3, 4].

Celem pracy była ocena wpływu preparatów pochodzenia naturalnego oraz substancji podstawowych (zgodnie z regulacją EC 1107/2009) na ograniczenie występowania suchej zgnilizny wywoływanej przez grzyb *L. fungicola* w uprawie pieczarki. W warunkach uprawowych badano skuteczność nadtlenu wodoru i octu winnego, a w warunkach laboratoryjnych wpływ ekstraktu ze skrzypu polnego, chlorowodoru chitozanu i preparatu biologicznego Serenade ASO na zahamowanie rozwoju *L. fungicola*.

W warunkach uprawowych obserwowano nieznaczne ograniczenie rozwoju suchej zgnilizny po zastosowaniu nadtlenu wodoru w stężeniu 150 ppm i octu winnego w stężeniu 2%. Preparat biologiczny Serenade ASO skutecznie ograniczał wzrost patogena, natomiast chlorowodorek chitozanu wykazał niską skuteczność w hamowaniu rozwoju grzyba.

Pracę wykonano w ramach zadania celowego nr 7.2: „Opracowanie technologii produkcji warzyw i grzybów jadalnych w systemie ekologicznym” finansowanego przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi

Literatura

5. Gea FJ, Navarro MJ, Santos M, Dianez F, Carrasco J (2021) Control of fungal diseases in mushroom crops while dealing with fungicide resistance: A review. *Microorganisms*. 9: 585
2. Motąła R (2018) Wykaz środków ochrony roślin do produkcji ekologicznej. <https://www.ior.poznan.pl/19,wykaz-srodkow-ochrony-roslin-do-produkcji-ekologicznej>
3. Soković M, Van Griensven LLD (2006) Antimicrobial activity of essential oils and their components against the three major pathogens of the cultivated button mushroom, *Agaricus bisporus*. *Eur J Plant Pathol* 116(3): 211-224
4. Xing K, Zhu X, Peng X, Qin S (2014) Chitosan antimicrobial and eliciting properties for pest control in agriculture: A review. *Agron Sustain Dev* 35(2): 569-588

Assessment of the effectiveness of basic substances and biopreparations in the control of dry bubble in mushroom cultivation

Joanna Szumigaj-Tarnowska, Joanna Augustyniak, Zbigniew Uliński

The National Institute of Horticultural Research, Department of Plant Cultivation and Fertilization,
Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

e-mail: joanna.tarnowska@inhort.pl

Poland is the largest producer of the white button mushrooms *Agaricus bisporus* in Europe. Currently, consumer awareness of the impact of food on human health puts pressure on the production of organic mushrooms. Mushroom cultivation is a demanding, multi-stage process that takes place in conditions of high humidity and temperature. Organic mushroom cultivation is carried out without the use of fungicides, which can cause development of fungal diseases that cause large crop losses. One of the most common fungal diseases in mushroom cultivation is dry bubble caused by *Lecanicillium fungicola* [1]. It is therefore extremely important to study the effect of new basic substances and biopreparations authorized for use in organic production on the pathogen growth [2, 3, 4].

The aim of the study was to assess the effect of natural preparations and basic substances (in accordance with the regulation EC 1107/2009) on the reduction of the occurrence of dry bubble caused by *L. fungicola* in mushroom cultivation. The effectiveness of hydrogen peroxide and wine vinegar in inhibiting dry bubble was assessed in growing conditions and in laboratory the effect of horsetail extract, chitosan hydrochloride and the biological agent of Serenade ASO was examined.

In growing conditions, it was observed a slight reduction of dry bubble development after the application of hydrogen peroxide at a concentration of 150 ppm and wine vinegar at a concentration of 2%. The biological preparation of Serenade ASO effectively controlled the growth of the pathogen, while chitosan hydrochloride showed low effectiveness in inhibiting the growth of the fungus.

This research was carried out as part of the target task No. 7.2: "Development of a technology for the production of edible vegetables and mushrooms in the ecological system" financed by the Ministry of Agriculture and Rural Development

References

6. Gea FJ, Navarro MJ, Santos M, Dianez F, Carrasco J (2021) Control of fungal diseases in mushroom crops while dealing with fungicide resistance: A review. *Microorganisms* 9: 585
1. Motąła R (2018) Wykaz środków ochrony roślin do produkcji ekologicznej. <https://www.ior.poznan.pl/19,wykaz-srodkow-ochrony-roslin-do-produkcji-ekologicznej>
2. Soković M, Van Griensven LLD (2006) Antimicrobial activity of essential oils and their components against the three major pathogens of the cultivated button mushroom, *Agaricus bisporus*. *Eur J Plant Pathol* 116(3): 211-224
3. Xing K, Zhu X, Peng X, Qin S (2014) Chitosan antimicrobial and eliciting properties for pest control in agriculture: A review. *Agron Sustain Dev* 35(2): 569-588

Badania nad endofitami rodzaju *Epichloë* w życicy trwałej

Anna Baturó-Cieśniewska¹, Dariusz Pańka¹, Małgorzata Jeske¹, Aleksander Łukanowski¹, Jean De Dieu Muhire^{1,2}

¹ Politechnika Bydgoska, Katedra Biologii i Ochrony Roślin, Al. prof. S. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz

² Hodowla Roślin Grunwald Sp. z o.o Grupa IHAR, Mielno 163, 14-107 Mielno

e-mail: baturó-a@pbs.edu.pl

Życica trwała (*Lolium perenne* L.), to gatunek trawy o dużej wartości pastewnej. Jest także jedną z najtrwalszych, niskich traw kępkowych. Dzięki temu wiele odmian posiada korzystne właściwości darniowe. Podobnie jak inne rośliny jest narażona na działanie niekorzystnych czynników, przed którymi obronę mogą stanowić endofity rodzaju *Epichloë*. W nadziemnych tkankach trawy rozwijają się systemicznie i utrzymują się w nich przez całe życie gospodarza [1]. Te symbiotyczne grzyby syntetyzują bioaktywne alkaloidy i inne metabolity, które chronią rośliny przed stresami biotycznymi i abiotycznymi [2,3].

Materiał badawczy stanowiły izolaty *Epichloë* uzyskane z życicy trwałej rosnącej na terenie Polski. Ich DNA, będące przedmiotem analiz przeprowadzanych techniką PCR, izolowano przy pomocy zestawu Bead-Beat Micro AX Gravity (A&A Biotechnology).

Na podstawie analiz sekwencji regionów ITS (internal transcribed spacers), oraz fragmentów genów kodujących Tef1- α (translation elongation factor 1-alpha), CHS (chitinase A) i NRPS-1 (nonribosomal peptide synthetase) stwierdzono jednoznacznie przynależność badanych izolatów do gatunku *Epichloë festucae*.

Analiza sekwencji wymienionych regionów pozwoliła również na zbadanie zróżnicowania genetycznego izolatów. Porównywano zróżnicowanie między naszymi izolatami *E. festucae*, a izolatami zdeponowanymi w GenBank NCBI, jak i sekwencjami tego gatunku z innymi przedstawicielami rodzaju *Epichloë/Neotyphodium* mogącymi zasiedlać trawy.

Wykazano zróżnicowanie genetyczne między naszymi izolatami *E. festucae*, a niektórymi izolatami tego samego gatunku pochodzącymi z innych regionów świata, od których nasze izolaty różniły się na poziomie 1-2%. Podobną różnicę nasze izolaty wykazywały w porównaniu z przedstawicielami innych gatunków takich jak *Epichloë tembladera*, *Neotyphodium coenophialum* czy *Neotyphodium australiense*.

Badania częściowo sfinansowano ze środków Europejskiego Funduszu Rolnego na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich – EFRROW: Europa inwestująca w obszary wiejskie, krajowe środki publiczne (projekt realizowany przez Konsorcjum Nova Trawa) oraz w ramach V edycji programu Ministra Edukacji i Nauki pn. „Doktorat wdrożeniowy”.

Literatura

1. Schardl C, Leuchtman A, Spierin M (2004). Symbioses of grasses with seedborne fungal endophytes. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55, 315–340.
2. Tanaka A, Takemoto D, Chujo T, Scott B (2012). Fungal endophytes of grasses. *Curr. Opin. Plant Biol.* 15, 462–468.
3. Johnson LJ, de Bonth AC, Briggs LR, Caradus JR, Finch SC, Fleetwood DJ i in. (2013). The exploitation of epichloae endophytes for agricultural benefit. *Fungal Divers.* 60, 171–188.

Research on endophytes of the genus *Epichloë* in perennial ryegrass

Anna Baturó-Cieśniewska¹, Dariusz Pańka¹, Małgorzata Jeske¹, Aleksander Łukanowski¹, Jean De Dieu Muhire^{1,2}

¹ Bydgoszcz University of Science and Technology, Department of Biology and Plant Protection, Kaliskiego 7 St., 85-796 Bydgoszcz, Poland

² Plant Breeding Company Grunwald Ltd., Group IHAR, Mielno 163, 14-107 Mielno, Poland

e-mail: baturó-a@pbs.edu.pl

Perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) is a species of grass with high forage value. It is also one of the most durable low tuft grasses. As a result, many varieties have favorable turf properties. Like other plants, it is exposed to unfavorable factors against which *Epichloë* endophytes may defend it. In the above-ground grass tissues they develop systematically and persist there throughout the whole host's life [1]. These symbiotic fungi synthesize bioactive alkaloids and other metabolites that protect plants from biotic and abiotic stresses [2,3].

The research material was *Epichloë* isolates obtained from perennial ryegrass growing in Poland. Their DNA, subject to PCR analysis, was isolated using the Bead-Beat Micro AX Gravity kit (A&A Biotechnology).

Based on the analysis of the sequences of ITS (internal transcribed spacers) regions and fragments of genes encoding Tef1- α (translation elongation factor 1-alpha), CHS (chitinase A) and NRPS-1 (nonribosomal peptide synthetase), it was clearly found that the studied isolates belong to the *Epichloë festucae*.

Sequence analysis of the regions mentioned also allowed to study the genetic diversity of isolates. Compared the differentiation between our *E. festucae* isolates and those deposited at GenBank NCBI, as well as the sequences of this species with other members of the genus *Epichloë* / *Neotyphodium* that can colonize grasses.

Genetic differentiation was shown between our *E. festucae* isolates and some isolates of the same species from other regions of the world, from which our isolates differed by 1-2%. Our isolates showed a similar difference compared to representatives of other species such as *Epichloë tembladera*, *Neotyphodium coenophialum* or *Neotyphodium australiense*.

This research was partially funded by European Agricultural Fund for Rural Development - EAFRD: Europe investing in rural areas, national public funds (project implemented by the Nova Trawa Consortium) and as part of the Vth edition of the program of the Minister of Education and Science entitled „Doktorat wdrożeniowy”.

References

1. Schardl C, Leuchtman A, Spierin M (2004). Symbioses of grasses with seedborne fungal endophytes. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55, 315–340.
2. Tanaka A, Takemoto D, Chujo T, Scott B (2012). Fungal endophytes of grasses. *Curr. Opin. Plant Biol.* 15, 462–468.
3. Johnson LJ, de Bonth AC, Briggs LR, Caradus JR, Finch SC, Fleetwood DJ et al. (2013). The exploitation of epichloae endophytes for agricultural benefit. *Fungal Divers.* 60, 171–188.

Zdolność rozkładu drewna przez *Gymnopilus junonius* (Fungi, Agaricales)

Andrzej Szczepkowski

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Instytut Nauk Leśnych, Katedra Ochrony Lasu, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

e-mail: andrzej_szczepkowski@sggw.edu.pl

Gymnopilus junonius (Fr.) P.D. Orton (łysak wspaniały) jest jednym z 14 gatunków należących do rodzaju *Gymnopilus* i występujących w Polsce, przeważnie na drewnie [1, 2]. W Europie gatunek ten jest szeroko rozprzestrzeniony i raczej częsty lub lokalnie rzadki. Owocniki średniej i dużej wielkości, przeważnie wyrastają kępkami na pniakach, na korzeniach, u podstawy martwych lub zamierających drzew i na leżącym drewnie. Pojawiają się od lipca do października. Spotykany jest w lasach (np. Nadleśnictwa Jabłonna, Wołów), parkach (np. Skaryszewski, Pola Mokotowskie w Warszawie), zadrzewieniach i skwerach (np. kampus SGGW w Warszawie), arboretach (np. w Rogowie), alejach przy drogach (np. ok. Rawy Mazowieckiej). Uznawany jest za gatunek saprotroficzny lub rzadziej, jako potencjalny pasożyt [3]. Powoduje biały typ rozkładu drewna przede wszystkim drzew liściastych, rzadziej iglastych [4]. Wykazywany był z następujących rodzajów drzew, m.in.: *Acer*, *Alnus*, *Betula*, *Carpinus*, *Castanea*, *Catalpa*, *Corylus*, *Erica*, *Eucalyptus*, *Fagus*, *Fraxinus*, *Ligustrum*, *Malus*, *Pinus*, *Populus*, *Pyrus*, *Salix*, *Tilia*, *Ulmus*, *Quercus* [3, 5]. Praca prezentuje zdolność rozkładu drewna czterech gatunków drzew przez izolat *G. junonius* pochodzący z Polski. W tym celu zastosowano metodę opartą na normach PN-EN 350 i EN-113 [6]. Jako miarę zdolności do rozkładu drewna przyjęto ubytek suchej masy po czteromiesięcznym teście rozkładu. Czystą kulturę grzyba (WAML-CK 65) wyizolowano z owocników wyrosłych na pniaku *Acer pseudoplatanus*. Drewno do badań pochodziło z Nadleśnictwa Kartuzy. Próbkę drewna użyte w doświadczeniu (po 12 na gatunek) wyrobiono z dolnej części pni zdrowych egzemplarzy będących w wieku rębnym i bliskorębnym dwóch gatunków drzew iglastych (*Pinus sylvestris*, *Picea abies*) i dwóch gatunków liściastych (*Fagus sylvatica*, *Quercus robur*). Badany izolat *G. junonius* spowodował ubytek masy drewna w zakresie 18,10-25,46% (buk), 10,91-14,60% (sosna), 9,02-13,20% (świerk) i 2,23-3,72% (dąb). Uzyskane wyniki wskazują na dobre właściwości dekompozycji drewna przez badany izolat *G. junonius* i możliwość wykorzystania tego gatunku jako potencjalnego środka biokontroli przeciwko patogenom korzeni.

Literatura

1. Wojewoda W (2003) Checklist of Polish larger Basidiomycetes. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Science.
2. Kujawa A (2022) Grzyby makroskopijne Polski w literaturze mikologicznej. Available online: <http://www.grzyby.pl/grzyby-makroskopijne-Polski-w-literaturze-mikologicznej.htm/> (accessed on 25 April 2022).
3. Holec J (2005) The genus *Gymnopilus* (Fungi, Agaricales) in the Czech Republic. Acta Musei Nationalis Pragae. Series B – Historia Naturalis 61(1–2): 1–53.
4. Barrasa JM, Blanco MN, Esteve-Raventós F, Altés A, Checa J, Martínez AT, Ruiz-Dueñas FJ (2014) Wood and humus decay strategies by white-rot basidiomycetes correlate with two different dye decolorization and enzyme secretion patterns on agar plates. Fungal Genet. Biol. 72: 106–114.
5. Kreisel H (1987) Pilzflora der Deutschen Demokratischen Republik. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.
6. Szczepkowski A, Sołowiński P, Piętka J, Zaniewski P (2021) Zdolność rozkładu drewna przez wybrane izolaty błyskoporka podkorowego *Inonotus obliquus*. Sylwan 165: 470–478.

Wood decay ability of *Gymnopilus junonius* (Fungi, Agaricomycota)

Andrzej Szczepkowski

¹ Warsaw University of Life Sciences, Institute of Forest Sciences, Department of Forest Protection, Nowoursynowska 159, 02-776 Warsaw

e-mail: andrzej_szczepkowski@sggw.edu.pl

Gymnopilus junonius (Fr.) P.D. Orton is one of 14 species belonging to the genus *Gymnopilus* and occurring in Poland, mainly on wood [1, 2]. In Europe, the species is widespread and rather common or locally rare. *G. junonius* forms a medium to large basidiomata that occur in small groups on stumps, roots, at the bases of dead or dying trees, and on lying wood from July to November. It can be found in forests (e.g. Jabłonna, Wołów Forest Districts), parks (e.g. Skaryszewski, Pola Mokotowskie in Warsaw), thickets and squares (e.g. SGGW campus in Warsaw), arboreta (e.g. in Rogów), tree rows by roads (e.g. around Rawa Mazowiecka). It is considered a saprotrophic species or less frequently as a potentially parasite [3]. It causes the white rot, mainly of deciduous trees, less often of conifers [4]. It was found on the following genera of trees: *Acer*, *Alnus*, *Betula*, *Carpinus*, *Castanea*, *Catalpa*, *Corylus*, *Erica*, *Eucalyptus*, *Fagus*, *Fraxinus*, *Ligustrum*, *Malus*, *Pinus*, *Populus*, *Pyrus*, *Salix*, *Tilia*, *Ulmus*, *Quercus* [3, 5]. The work presents the ability to decompose the wood of four tree species by the *G. junonius* isolate originating from Poland. The loss of dry wood mass after a four-month decomposition test was adopted as a measure of ability to decompose wood. Pure culture fungus was isolated from basidiomata of *G. junonius* collected from stump of *Acer pseudoplatanus* (WAML-CK 65). The wood to the experiment was obtained from the Kartuzy Forest District. The wood samples (12 per species) for the tests were taken from the lower part of the trunks of healthy trees of cutting and near-cutting age of two coniferous (*Pinus sylvestris*, *Picea abies*) and two deciduous tree species (*Fagus sylvatica*, *Quercus robur*). The study showed that *G. junonius* caused a loss of wood mass in the range of 18.10-25.46% (beech), 10.91-14.60% (pine), 9.02-13.20% (spruce), and 2.23 -3.72% (oak). The obtained results indicate good wood decaying properties of the investigated *G. junonius* isolate and using this species as a potential biocontrol agents against root pathogens.

References

1. Wojewoda W (2003) Checklist of Polish larger Basidiomycetes. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Science.
2. Kujawa A (2022) Grzyby makroskopijne Polski w literaturze mikologicznej. Available online: <http://www.grzyby.pl/grzyby-makroskopijne-Polski-w-literaturze-mikologicznej.htm/> (accessed on 25 April 2022).
3. Holec J (2005) The genus *Gymnopilus* (Fungi, Agaricales) in the Czech Republic. Acta Musei Nationalis Pragae. Series B – Historia Naturalis 61(1–2): 1–53.
4. Barrasa JM, Blanco MN, Esteve-Raventós F, Altés A, Checa J, Martínez AT, Ruiz-Dueñas FJ (2014) Wood and humus decay strategies by white-rot basidiomycetes correlate with two different dye decolorization and enzyme secretion patterns on agar plates. Fungal Genet. Biol. 72: 106–114.
5. Kreisel H (1987) Pilzflora der Deutschen Demokratischen Republik. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.
6. Szczepkowski A, Sołowiński P, Piętka J, Zaniewski P (2021) Zdolność rozkładu drewna przez wybrane izolaty błyskoporka podkorowego *Inonotus obliquus*. Sylwan 165: 470–478.

Strategie w cyklach płciowych podstawczaków jako metody osiągnięcia różnorodności

Ewa Moliszewska¹, Małgorzata Nabrdalik¹, Patrycja Hendel¹, Paweł Kudrys¹

¹Uniwersytet Opolski, Instytut Inżynierii Środowiska i Biotechnologii, ul. Ks. B. Kominak 6a, 43-032 Opole

e-mail: ewamoli@uni.opole.pl

Patogeniczne dla roślin podstawczaki znane są ze swej skomplikowanej natury jeśli chodzi o cykl płciowy (rdze, spermatogamia i kilka rodzajów zarodników) lub wręcz z bardzo uproszczonego cyklu sprowadzającego się do prostej somatogamii, czyli fuzji dwóch zwykle wielojądrowych homokarionów (zwanymi czasem też monokarionami). Jednak ten prosty sposób kryje w sobie szereg strategii mających na celu zmaksymalizowanie różnorodności genetycznej populacji. Z uwagi na prostotę cyklu trudno tu mówić o płciach, choć literatura używa takiego sformułowania, zamiast tego znacznie bezpieczniej jest mówić o typach kojarzeniowych (mating types). Strukturą poszczególnych typów kojarzeniowych rządzą dwie główne grupy genów *A* i *B*, każda dodatkowo występująca w różnych wariantach. Ma to wpływ na owo mnożenie się płci grzybów, jeśli zechcemy rozpatrywać ten aspekt w trybie płciowości. Uzupełnieniem dla klasycznego procesu płciowego są różne możliwości rekombinacji genetycznych, czyli wymiany jąder możliwe na różnych poziomach stanów jądrowych strzępek. Somatogamia zachodzi pomiędzy strzępkami monokariotycznymi (mon-mon), jednak wymiana jądrowa zachodzi także w układach monokarion-dikarion (mon-di; fenomen Bullera) oraz pomiędzy strzępkami dikariotycznymi (di-di). Zapewnia to korzyści z wymiany jądrowej i uzyskiwania zmienności niedostępne dla organizmów diploidalnych [1-4]. Procesy te są także determinowane genetycznie. Reguły te mają zastosowanie do naszych modeli: *Rhizoctonia solani* (podstawczak niewytwarzający sprzążek ani owocników) oraz *Pleurotus ostreatus* (wytwarza sprzążki, tworzy owocniki).

Literatura

1. Auxier B, Czárán TL, Aanen DK (2022) Modeling the consequences of the dikaryotic life cycle of mushroom-forming fungi on genomic conflict. *eLife* 11:e75917.
2. Bart P.S, Nieuwenhuis BPS, Debets AJM, Aanen DK (2013) Fungal fidelity: Nuclear divorce from a dikaryon by mating or monokaryon regeneration. *Fungal Biology* 117(4): 261-267.
3. Clifford Zeyl C (2009) The role of sex in fungal evolution. *Current Opinion in Microbiology* 12(6): 592-598.
4. Paoletti M (2016) Vegetative incompatibility in fungi: From recognition to cell death, whatever does the trick. *Fungal Biology Reviews* 30(4): 152-162.

Strategies in the sex cycles of basidiomycetes as methods of achieving diversity

Ewa Moliszewska¹, Małgorzata Nabrdalik¹, Patrycja Hendel¹, Paweł Kudrys¹

¹ Uniwersytet Opolski, Instytut Inżynierii Środowiska i Biotechnologii, ul. Ks. B. Kominak 6a, 43-032 Opole

e-mail: ewamoli@uni.opole.pl

Plant pathogenic Basidiomycete fungi are very well known for their complex sexual cycle (rusts, spermatogamy and several types of spores) but the typical Basidiomycete sexual cycle seems to be the simpler somatogamy, i.e. the fusion of two usually multinucleate homokaryons (sometimes also called monokaryons). However, this simple approach has a number of strategies to maximize the genetic diversity of a population efficiently. In Basidiomycetes it is difficult to talk about genders due to the simplicity of the sexual cycle. Although the literature uses this phrase, it is much safer to talk about mating types instead. The structure of individual mating types is governed by two main groups of genes, *A* and *B*, each additionally having different variants, which has an impact on sexes multiplication in the case of mushrooms. The classic sexual cycle is complemented by various possibilities of genetic recombination, i.e. the exchange of nuclei possible at different stages of the possible nuclear states of the hyphae. Somatogamy occurs between monokaryotic hyphae (mon-mon), but nuclear exchange also occurs in monokaryotic-dikaryon systems (mon-di; Buller phenomenon) and between dikaryotic hyphae (di-di). This provides the benefits of nuclear exchange and variability that are not available to diploid organisms [1-4]. These processes are also genetically determined. These possibilities are studied on our model fungi: *Rhizoctonia solani* (Basidiomycete fungus that do not produce clamps or fruiting bodies) and *Pleurotus ostreatus* (produces clamps, creates fruiting bodies).

References

1. Auxier B, Czárán TL, Aanen DK (2022) Modeling the consequences of the dikaryotic life cycle of mushroom-forming fungi on genomic conflict. *eLife* 11:e75917.
2. Bart P.S, Nieuwenhuis BPS, Debets AJM, Aanen DK (2013) Fungal fidelity: Nuclear divorce from a dikaryon by mating or monokaryon regeneration. *Fungal Biology* 117(4): 261-267.
3. Clifford Zeyl C (2009) The role of sex in fungal evolution. *Current Opinion in Microbiology* 12(6): 592-598.
4. Paoletti M (2016) Vegetative incompatibility in fungi: From recognition to cell death, whatever does the trick. *Fungal Biology Reviews* 30(4): 152-162.

Różnorodność fenotypowa grzybów z rodzaju *Verticillium* i *Trichoderma* a konkurencja o źródła azotu (Biolog® PM6)

Karolina Oszust¹, Flavia Pinzari², Magdalena Frąc¹

¹Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

²Institute for Biological Systems (IBS), Council of National Research of Italy (CNR), Area della Ricerca di Roma 1, via Salaria Km 29,300, 00015 Monterotondo (RM), Italy

e-mail: k.oszust@ipan.lublin.pl, m.frac@ipan.lublin.pl

Do kluczowych roślinnych grzybowych patogenów odglebowych, m.in. owoców miękkich, należą gatunki z rodzaju *Verticillium*. W związku z zainteresowaniem konsumentów produktami z upraw ekologicznych realne jest także zapotrzebowanie na naturalne środki ochrony roślin, wykorzystujące między innymi mikroorganizmy antagonistyczne. Spośród szeregu grzybów stosowanych w biologicznej ochronie roślin największe zainteresowanie niezmiennie wzbudzają grzyby z rodzaju *Trichoderma*, co wynika z faktu, że cechuje je silna agresywność skierowana przeciwko fitopatogenom (mykopasożytnictwo, antybioza, konkurencja) oraz efektywna stymulacja wzrostu roślin i mechanizmów obronnych, czy zdolności modyfikowania mikrobiomu ryzosfery. Najmniej zbadany i opisany w literaturze mechanizm działania grzybów z rodzaju *Trichoderma* na fitopatogeny to mechanizm wynikający z konkurencji o składniki pokarmowe [1].

W literaturze przedmiotu uznane jest zastosowanie mikromacierzy fenotypowych (ang. Biolog Phenotype MicroArray®, PM) do badania zróżnicowania zdolności grzybów do wykorzystania różnych substratów. Jest to czuła, wiarygodna i powtarzalna metoda opierająca się na fenotypowym fingerprintingu. Niemniej jednak marginalnie w porównaniu do źródeł węgla traktowany jest azot, choć wiadomo, że jego obecność w środowisku ma niebagatelne znaczenie dla formowania się masy zarodników konidialnych i chlamydospor, a więc ma wpływ na konkurencyjność w niszy ekologicznej. Co więcej, tę różnorodność fenotypową opisuje się zazwyczaj na podstawie różnic poziomu katabolizmu substratów bądź przyrostu biomasy, ale bardzo rzadko uwzględnia się te parametry razem. Tymczasem przyrost biomasy może następować przy zużyciu nawet niewielkiej ilości substratu, a odpowiedni stosunek poziomu katabolizmu (odpowiedź oddechowa) do poziomu przyrostu biomasy informuje o zaistnieniu potencjalnie stresowych warunków [2].

Celem badań było określenie poziomu selektywności wykorzystania substratów azotowych. Analizy przeprowadzono w wykorzystaniem systemu Biolog® PM6 z modyfikacją własną polegającą na zastosowaniu wyselekcjonowanego wcześniej 1% dodatku mieszaniny Biolog® mix dye, F jako barwnika redoks.

Praca współfinansowana przez Narodowe Centrum Nauki w ramach programu MINIATURA, numer umowy 2021/05/X/NZ9/00341 oraz przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu BIOSTRATEG, numer umowy BIOSTRATEG3/344433/16/NCBR/2018

Literatura

1. Oszust K., Cybulska J., Frąc M. (2020) How do *Trichoderma* genus fungi win a nutritional competition battle against soft fruit pathogens? A report on niche overlap nutritional potentiates. *Int J Mol Sci*, 21:12, 4235.
2. Pinzari F. (2017) A simple method for measuring fungal metabolic quotient and comparing carbon use efficiency of different isolates: Application to Mediterranean leaf litter fungi. *Plant Biosystems*, 2: 371-376.

Phenotypic diversity of *Verticillium* and *Trichoderma* genera and the competition for nitrogen sources (Biolog® PM6)

Karolina Oszust¹, Flavia Pinzari², Magdalena Frąc¹

¹Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, Poland

²Institute for Biological Systems (IBS), Council of National Research of Italy (CNR), Area della Ricerca di Roma 1, via Salaria Km 29,300, 00015 Monterotondo (RM), Italy

e-mail: k.oszust@ipan.lublin.pl, m.frac@ipan.lublin.pl

Some species of the *Verticillium* fungal genus are key soil-borne pathogens of soft fruits. Due to consumers' rising interest in organic farming products, there is a need for natural plant protection products based on antagonistic microorganisms, limiting the damage caused by *Verticillium* on some fresh products. Among the fungi already in use for biological control of fungal pathogens, the most significant interest is invariably in *Trichoderma* isolates. This is due to their strong aggressiveness against phytopathogens (mycoparasitism, antibiosis, competition), effective stimulation of plant growth and defence mechanisms, and the ability to modify the rhizosphere microbiome. The mechanism of action of *Trichoderma* spp. against phytopathogens that has been least studied and described in the literature is competition for nutrients [1].

Phenotype MicroArray™ system (PM) can be efficiently applied to study the fungal use of different substrates as carbon or nitrogen sources. It is a sensitive, reliable, and repeatable method based on functional fingerprinting. However, nitrogen is considered only marginally compared to carbon sources, even if its presence is necessary for fungal conidiation and chlamydospores production. Nitrogen has an impact on fungal species' competitiveness in any ecological niche. Fungal phenotypic diversity is usually described based on differences in substrate catabolism or biomass production, but these parameters are rarely combined and considered together. The increase in fungal biomass can actually occur with the consumption of a small amount of substrate, corresponding to a condition of high metabolic efficiency. Conversely, an increased respiratory response of a fungus combined with low biomass production in the corresponding well can potentially indicate a stressful condition [2].

The research goal was to determine the selectivity of nitrogen substrates consumption in *Verticillium* and *Trichoderma* genera. The experiments were carried out using PM6 Biolog® system with some modifications. In particular, a 1% F mix Biolog® dye was added as a redox indicator.

This paper was co-financed by The National Science Centre in the frame of the MINIATURA scientific activity, contract number 2021/05/X/NZ9/00341 and The National Centre for Research and Development in the frame of the project BIOSTRATEG, contract number BIOSTRATEG3/344433/16/NCBR /2018

References

1. Oszust K., Cybulska J., Frąc M. (2020) How do *Trichoderma* genus fungi win a nutritional competition battle against soft fruit pathogens? A report on niche overlap nutritional potentiates. *Int J Mol Sci*, 21:12, 4235.
2. Pinzari F. (2017) A simple method for measuring fungal metabolic quotient and comparing carbon use efficiency of different isolates: Application to Mediterranean leaf litter fungi. *Plant Biosystems*, 2: 371-376.

Postery

Choroby odglebowe truskawek diagnozowane w uprawach polowych w gruncie

Karolina Felczak-Konarska

Fertico Sp. z o.o. , Instytut Agronomiczny Fertico, Goliiany 43, 05-622 Błędów

e-mail: karolina.felczak-konarska@fertico.com.pl

W ostatnich latach obserwowane są dynamiczne zmiany dotyczące, głównie technologii produkcji truskawek. Związane jest to przede wszystkim z bardzo dużym zainteresowaniem uprawą tego gatunku jak też wzrostem wymagań rynku i konsumentów. Intensywny rozwój produkcji truskawek oraz handel materiałem nasadzeniowym sprzyja pojawianiu się i rozprzestrzenianiu patogenów szczególnie pochodzenia odglebowego i grzybowego. Zagrożenia dla uprawy stanowią nie tylko nowe patogeny, które są odnotowywane na plantacjach ale też, te powszechnie występujące, które w sprzyjających warunkach do rozwoju powodują duże straty ekonomiczne. Rozwój patogenów zależy od wielu czynników m.in. wielkości źródła infekcji, podatności wybranych odmian, warunków pogodowych. Do infekcji może dochodzić w szkółkach gdzie produkowany jest materiał nasadzeniowy, gdzie dalej może być przenoszony na plantacje produkcyjne. Obecnie obserwuje się duże nasilenie chorób powodowanych przez lęgniowce z rodzaju *Phytophthora*. Stwierdza się powszechnie występowanie *P. cactorum* oraz *P. fragariae*. Z roku na rok wzrasta także presja grzyba *Pestalotiopsis clavispora*, który jest obecnie powszechnie identyfikowany na plantacjach. Dużym zagrożeniem dla plantacji jest także *V.dahlie*, *Fusarium* spp. czy też *Colletotrichum acutatum*. Te patogeny także identyfikowane są obecnie na plantacjach towarowych truskawek uprawianych w gruncie. Czynniki sprawcze to także *B. cinera* grzyb powszechnie identyfikowany na plantacjach towarowych oraz *Gnomonia comari* sprawca zgnilizny owoców i plamistości liści truskawki oraz zgnilizny korzeni truskawki. Oprócz tych czynników identyfikowane są także gatunki z rodzaju *Pythium* spp. *Rhizoctonia* spp., *Ramularia* spp. patogeny te odpowiadają za czarną zgniliznę korzeni truskawki. Choroby odglebowe są trudne do identyfikacji ze względu na podobne objawy, ale też występowanie kilku czynników etiologicznych jednocześnie. W celu ich prawidłowej identyfikacji niezbędna jest szczegółowa analiza z wykorzystaniem technik biologii molekularnej. Obecnie w procesie diagnostycznym wykorzystywane są techniki molekularne oparte na metodach PCR. Metody molekularne są bardzo czułe i dają wiarygodność rzędu 99%. Technika molekularnej diagnostyki stanowi nie zastąpioną technikę dla doradców i praktyków. Wykorzystanie łańcuchowej reakcji polimerazy – PCR umożliwi wykrycie patogena, nawet w fazie przed objawowej, kiedy infekcja nie wywołała objawów możliwych do zaobserwowania na roślinie.

Strawberry soil diseases diagnosed in field crops in the soil

Karolina Felczak-Konarska

Fertico Sp. z o.o. , Instytut Agronomiczny Fertico, Goliiany 43, 05-622 Błędów

e-mail: karolina.felczak-konarska@fertico.com.pl

In recent years, dynamic changes have been observed, mainly in the technology of strawberry production. This is mainly due to the great interest in the cultivation of this species as well as the increasing market and consumer requirements. The intensive development of strawberry production and the trade in planting material favor the appearance and spread of pathogens, especially origin of soil and fungal pathogens. Threats to cultivation are not only new pathogens, which are noted on plantations, but also common ones, which in favorable conditions for development cause large economic losses. The development of pathogens depends on many factors, including size of the source of infection, susceptibility of selected varieties, weather conditions. Infection can occur in nurseries where planting material is produced, where it can then be transferred to production plantations. Currently, a high intensity of diseases caused by oomycetes of the genus *Phytophthora* is observed. *P. cactorum* and *P. fragariae* are commonly found. The pressure of the *Pestalotiopsis clavispora* fungus, which is now commonly identified on plantations, also increases from year to year. *V.dahliae*, *Fusarium spp.* or *Colletotrichum acutatum* are also a big threat to plantations. These pathogens are also now identified in commercial strawberry plantations grown in the open. The causative agents are also *B. cinera*, a fungus commonly identified in commercial plantations, and *Gnomonia comari*, the cause of fruit rot, strawberry leaf blotch and strawberry root rot. Apart from these factors, also species of the genus *Pythium spp.*, *Rhizoctonia spp.*, *Ramularia spp.* are identified. These pathogens are responsible for black rot of the strawberry roots. Soil diseases of strawberry are difficult to identify due to similar symptoms, but also the presence of several etiological factors at the same time. In order to correctly identify them, a detailed analysis using molecular biology techniques is necessary. Currently, molecular techniques based on PCR methods are used in the diagnostic process. Molecular methods are very sensitive and give a reliability of 99%. The technique of molecular diagnostics is an irreplaceable technique for advisers and practitioners. The use of the polymerase chain reaction - PCR makes it possible to detect the pathogen, even in the pre-symptomatic phase, when the infection did not cause symptoms that can be observed on the plant.

Środowiskowe izolaty grzybów należących do rodzaju *Neofabraea*, powodujące gorzką zgniliznę jabłek w Polsce

Klaudia Szpiliska¹, Karolina Oszust¹, Jacek Panek¹, Agata Gryta¹, Michał Pylak¹, Magdalena Frąc¹

¹Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

e-mail: k.oszust@ipan.lublin.pl, k.szpiliska@ipan.lublin.pl

Sektor produkcji jabłek pełni ważną rolę w gospodarce naszego kraju. Polska jest bowiem jednym z największych producentów jabłek w Europie, zajmując jednocześnie czołowe miejsce pod względem powierzchni sadów jabłoniowych [1]. W związku z tym wielkość i jakość produkcji należą do priorytetowych zagadnień, na których koncentrują się producenci jabłek. Sadownicy borykają się jednak m.in. z problemem chorób przechowalniczych.

Jedną z chorób przechowalniczych jabłek jest gorzka zgnilizna, którą powodują grzyby z rodzaju *Neofabraea* (synonim *Pezicula*, *Gleosporium*). Ze względu na latentny charakter gorzkiej zgnilizny trudno jest ocenić jakość jabłek podczas zbioru. A to dlatego, że objawy choroby pojawiają się dopiero podczas przechowywania owoców w chłodniach. Liczne badania naukowe wskazują na negatywne skutki stosowania syntetycznych środków ochrony roślin, dlatego zgodnie z obowiązującymi regulacjami będą sukcesywnie wycofywane z rynku. W związku z tym, producenci oczekują nowych skutecznych, ekologicznych metod ochrony jabłoni przed skutkami występowania *Neofabraea* spp. oraz sposobów wczesnego wykrywania patogenu, gdy nie ma jeszcze objawów gorzkiej zgnilizny.

Dlatego w ramach projektu Lider XII APPA(t)FREE (NCBR) zaplanowano opracowanie rozwiązań biotechnologicznych w tym zakresie. Będą to mikrobiologiczny biopreparat zapobiegający rozwojowi *Neofabraea* spp. oraz metoda wczesnej detekcji zarodników w jabłku. Obydwa rozwiązania będą celowane do funkcjonalnej i genetycznej bioróżnorodności grzybów z rodzaju *Neofabraea* występujących na terenie Polski.

Celem prezentowanych działań naukowych było pozyskanie środowiskowych izolatów *Neofabraea* spp. Dotychczas, wyprowadzono czyste kultury 320 izolatów grzybów. Materiał, z którego pozyskano patogeny to 20 odmian jabłek pochodzących z 24 miejscowości, dostarczony przez 19 sadowników indywidualnych i 4 Grupy Producentów Owoców. Jabłka pochodziły zarówno z produkcji integrowanej jak i ekologicznej. Czyste kultury grzybów wyprowadzono poprzez wyłożenie fragmentu zmienionego chorobowo jabłka na podłoże z wyciągiem ziemniaczanym (PDA), z dodatkiem antybiotyków. Na podstawie sekwencjonowania genomowego DNA metodą Sanger z wykorzystaniem fragmentu ITS1, oprócz grzybów należących do rodzaju *Neofabraea*, zidentyfikowano także przedstawicieli rodzajów *Alternaria*, *Botryosphaeria*, *Botrytis*, *Cadophora*, *Colletotrichum*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Neonectria*, *Phoma*, *Sordaria* oraz *Stemphylium*.

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach projektu LIDER XII, numer umowy LIDER/7/0054/L-12/20/NCBR/2021

Literatura

1. Eurostat. Apple and pear trees - Area by density classes and the group of varieties. Available online: https://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/orch_apples2/default/bar?lang=en

Environmental isolates of *Neofabraea* genus fungi causing bitter rot of apples in Poland

Klaudia Szpilska, Karolina Oszust*, Jacek Panek, Agata Gryta, Michał Pylak, Magdalena Frąć

Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, Poland

e-mail: k.oszust@ipan.lublin.pl, k.szpilska@ipan.lublin.pl

The apple production sector plays an important role in the economy of our country. Poland is one of the largest apple producers in Europe, while at the same time occupying a leading position in terms of the area of apple orchards [1]. Therefore, the yield and quality of the production are a priority for apple producers. However, growers among others, struggle with the problem of storage diseases.

One of the storage diseases of apples is bitter rot caused by fungi belonging to the *Neofabraea* genus (synonym of *Pezicula*, *Gleosporium*). Due to the latent nature of bitter rot, it is difficult to judge the quality of apples during harvesting. This is because the symptoms of the disease do not appear until the fruit is stored in cold. What is more, numerous scientific studies indicate the negative effects of the use of synthetic fungicides. Therefore, following applicable regulations, they will be gradually withdrawn from the market. Thus, producers expect new, effective, pro-ecological methods of protecting their apple yields against *Neofabraea* spp. activity and methods of the early detection of this pathogen, when there are no symptoms of bitter rot.

Therefore, as part of the Lider XII APPA(t)FREE (NCBR) project, it was planned to develop biotechnological solutions in this area. These will be a microbial biopreparation preventing the development of *Neofabraea* spp. and a method of early detection of *Neofabraea* spp. spores in apples. Both solutions will be aimed at the functional and genetic biodiversity of fungi of the genus *Neofabraea* occurring in Poland.

The research activities presented here aimed to obtain environmental isolates of *Neofabraea* spp. Pure cultures of 320 fungal isolates have been derived, so far. The material from which the pathogens were obtained was derived from 20 apple varieties, from 24 localizations, supplied by 19 individual growers and 4 Fruit Producers' Groups. The apples came from both integrated and organic production. Pure cultures of fungi were isolated by placing a fragment of a diseased apple on a potato dextrose agar medium (PDA) with the addition of antibiotics. Based on genomic DNA sequencing by the Sanger method, using the ITS1 fragment, apart from the requested fungi belonging to the genus *Neofabraea*, the representatives of the following genera: *Alternaria*, *Botryosphaeria*, *Botrytis*, *Cadophora*, *Colletotrichum*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Neonectria*, *Phoma*, *Sordaria* and *Stemphylium* were identified.

This paper was financed by The National Centre for Research and Development in the frame of the project LIDER XII, contract number LIDER/7/0054/L-12/20/NCBR/2021

References

1. Eurostat. Apple and pear trees - Area by density classes and the group of varieties. Available online: https://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/orch_apples2/default/bar?lang=en (accessed on 26 May 2022).

Etapy infekcji pszenicy twardej przez *Fusarium graminearum*

Weronika Giedrojć¹, Wioletta Pluskota², Urszula Wachowska¹

¹Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Katedra Entomologii, Fitopatologii i Diagnostyki Molekularnej, ul. Prawocheńskiego 17, 10-722 Olsztyn

²Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Katedra Fizjologii, Genetyki i Biotechnologii Roślin, ul. M. Oczapowskiego 1A/115, 10-719 Olsztyn

e-mail: weronika.giedrojcz@uwm.edu.pl

Fuzarioza kłosów (FHB) pszenicy twardej jest jedną z najpowszechniejszych i najbardziej niebezpiecznych chorób pszenicy na świecie. Główną konsekwencją wystąpienia FHB jest zanieczyszczenie ziarna mykotoksynami, głównie trichotecenami, takimi jak np. deoksynivalenol (DON). Dominującym gatunkiem powodującym FHB jest *F. graminearum* (teleomorfa *Gibberella zae*). *Fusarium graminearum* utrzymuje się jako saprotrof na resztkach poźniwnych. Jego inokulum składa się głównie z askospor i makrokonidiów. Zarodniki płciowe, askospory, wytwarzane w perytecjach, wyrzucane są w powietrze i stanowią inokulum pierwotne, zwykle w fazie kwitnienia pszenicy. Zarodniki bezpłciowe, makrokonidia, są wytwarzane przez grzybnię *F. graminearum* znajdującą się na porażonych roślinach i mogą być przeniesione na sąsiednie kłosa. Celem badań prowadzonych w warunkach szklarniowych była obserwacja procesu infekcyjnego *F. graminearum* po aplikacji ochrony biologicznej.

W szklarni do donic o średnicy 30 cm wysiano jarą formę pszenicy twardej. Przez cały okres wzrostu pszenica była optymalnie podlewana, trzykrotnie nawożona oraz dwukrotnie chroniona fungicydem przed patogenem mączniaka prawdziwego zbóż i traw. Rośliny wykłosiły się po sześciu tygodniach wzrostu w temperaturze 25°C w dzień i 21°C w nocy. Inokulację kłosów wykonano w okresie kwitnienia wprowadzając zawiesinę zarodników szczepu *F. graminearum* (genotyp DON) do dwóch górnych kłosek w kłosach. Przeprowadzono ją po 24 godzinach od aplikacji zabiegów biologicznych. Ochrona biologiczna polegała na opryskiwaniu kłosów zawiesiną izolatu drożdży *Debaryomyces hansenii* (Dh) lub przesączem (ODh) tego izolatu. Po 7 i 14 dniach od inokulacji przeprowadzono obserwacje i ocenę zdrowotności kłosów. Doświadczenie założono w czterech powtórzeniach. Faza biotroficzna (bezobjawowa) rozwoju patogenu trwała około 30 godzin. Po tym czasie na kłosach obserwowano pierwsze objawy fazy nekrotroficznej w postaci brunatnych plam na plewach kłosek. W konsekwencji dalszej infekcji kłosa zamierały, a dokłose czarnało. Infekcja przemieszczała się od inokulowanych górnych kłosek na dolne i górne kłosa w kłosie. Na kłosach obserwowano także białe strzępki patogenu. Nasilenie fuzariozy kłosów było istotnie większe po 14 dniach niż po 7 dniach od inokulacji. Skuteczność zabiegu biologicznego oszacowano na poziomie 47,2 (Dh) i 49,3% (ODh). Proces infekcyjny *F. graminearum* był bardzo dynamiczny i składał się z dwóch etapów: bezobjawowego i objawowego.

Stages of *Fusarium graminearum* infection in durum wheat

Weronika Giedrojc¹, Wioletta Pluskota², Urszula Wachowska¹

¹ University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Department of Entomology, Phytopathology and Molecular Diagnostics, Prawocheńskiego 17, 10-722 Olsztyn

² University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Department of Plant Physiology, Genetics and Biotechnology, Oczapowskiego 1A/115, 10-719 Olsztyn

e-mail: weronika.giedrojc@uwm.edu.pl

Fusarium head blight (FHB) is one of the most prevalent and dangerous diseases of wheat in the world. Infected grain is contaminated with mycotoxins, mainly trichothecenes such as deoxynivalenol (DON). *Fusarium graminearum* (teleomorph *Gibberella zeae*) is the main causative agent of FHB. This saprotrophic fungus colonizes crop residues after harvest. The fungal inoculum is composed mainly of ascospores and macroconidia. Ascospores (sexual spores) are produced in perithecia and are discharged into the air. Ascospores constitute the primary inoculum, and they usually infect wheat plants in the flowering stage. Macroconidia (asexual spores) are produced by *F. graminearum* mycelia on infected plants and can be transferred to other spikes. The aim of this greenhouse experiment was to analyze the *F. graminearum* infection process after the application of a protective biological treatment.

Seeds of spring durum wheat were sown in pots with a diameter of 30 cm in a greenhouse. Wheat plants were optimally irrigated, fertilized three times and subjected to two fungicide treatments targeting powdery mildew during the entire growth period. Wheat spikes emerged six weeks after sowing. Greenhouse temperature was maintained at 25°C during the day and 21°C at night. In the flowering stage, spikes were inoculated by applying a suspension of *F. graminearum* spores (DON genotype) to the top two spikelets. Spikes were inoculated 24 hours after the biological treatment. The biological treatment involved a suspension of *Debaryomyces hansenii* (Dh) yeast cells or yeast filtrate (ODh) that were sprayed on the spikes. Spike health was assessed 7 and 14 days after inoculation. The experiment was conducted in four replicates. The biotrophic (asymptomatic) stage of pathogen development lasted around 30 hours. After this time, brown spots were observed on spikelet glumes as the first symptoms of the necrotrophic stage. Wheat spikes were necrotized and the shank turned black in successive stages of infection. Symptoms of infection spread from the inoculated top spikelets to the bottom spikelets. White fungal hyphae were also observed on spikes. The symptoms of FHB were significantly intensified 14 days after inoculation in comparison with 7 days after inoculation. The effectiveness of the biological treatment was estimated at 47.2% (Dh) and 49.3% (ODh). The *F. graminearum* infection proceeded rapidly and consisted of two stages: an asymptomatic stage and a symptomatic stage.

Fuzarioza kolb kukurydzy – etiologia choroby

Marcin Wit¹, Mateusz Sobieraj¹, Emilia Jabłońska¹, Ewa Mirzwa-Mróż¹, Piotr Ochodźki²,
Roman Warzecha², Wojciech Wakuliński¹

¹ Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Instytut Nauk Ogrodniczych, Katedra Ochrony Roślin, Zakład Fitopatologii, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

² Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Biologii Stosowanej, Radzików, 05-870 Błonie

e-mail: marcin_wit@sggw.edu.pl

Kukurydza odgrywa znaczącą rolę w uprawie roślin zbożowych w Polsce. Wzrost zapotrzebowania na *Zea mays* L. występuje przede wszystkim ze strony przemysłu paszowego. W warunkach polowych dużym zagrożeniem dla tej rośliny jest fuzarioza kolb kukurydzy. Pośród kolonizatorów ziarniaków wyróżnia się gatunki patogeniczne i saprotroficzne. W kompleksie czynników sprawczych fuzariozy kolb wymienia się szereg toksynotwórczych gatunków grzybów, należących do rodzaju *Fusarium* m.in.: *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (syn. *Fusarium fujikuroi* Nirenberg), *Fusarium temperatum* Scaufl. & Munaut, *Fusarium subglutinans* sensu stricto, *Fusarium subglutinans* sensu lato (Wollenw. & Reinking) P.E. Nelson, Toussoun & Marasas, *Fusarium culmorum* (Wm. G. Sm). Sacc. oraz *Fusarium graminearum* Schwabe. Wyżej wymienione patogeny są producentami mykotoksyn, które charakteryzują się szczególną szkodliwością, przede wszystkim dla organizmów stałocieplnych.

W latach 2019-2020 prowadzono analizę mikologiczną ziarna pochodzącego z kolb *Zea mays*. Materiał roślinny pobierano z pól produkcyjnych położonych w Polsce, w miejscowościach: Mława, Żuromin, Zielona, Szreńsk, Radzików oraz w okolicach Leżajska i Gdańska. Wyniki badań pokazują, że grzyby z rodzaju *Fusarium* powszechnie porażają ziarniaki kukurydzy. Pośród uzyskanych izolatów grzybów frekwencja gatunków należących do rodzaju *Fusarium* wyniosła 39,01%. Udział procentowy *Fusarium subglutinans* sensu lato wynosił 11,35%, zaś *Fusarium verticillioides* 7,70%. Powszechne występowanie oraz szkodliwość wyżej wymienionych sprawców fuzariozy kolb, wskazuje na potrzebę poszukiwań rozwiązań ograniczających występowanie tej choroby w uprawie *Zea mays*.

Fusarium ear rot – etiology of disease

Marcin Wit¹, Mateusz Sobieraj¹, Emilia Jabłońska¹, Ewa Mirzwa-Mróż¹, Piotr Ochodzki²,
Roman Warzecha², Wojciech Wakuliński¹

¹Warsaw University of Life Sciences, Institute of Horticultural Sciences, Department of Plant Protection, Section of Plant Pathology, Nowoursynowska 159, 02-776 Warsaw

²Plant Breeding and Acclimatization Institute—National Research Institute, Department of Applied Biology, Radzików, 05-870 Błonie

e-mail: marcin_wit@sggw.edu.pl

Maize plays a significant role in the cultivation of cereal crops in Poland. The increase in the demand for *Zea mays* L. occurs mainly from the fodder industry. Fusarium ear rot is the big threat to this plant under field conditions. Among the kernel colonizers, pathogenic and saprotrophic species are distinguished. The complex of causative agents of corn cob fusariosis contains a number of toxicogenic fungal species, belonging to the genus *Fusarium*, including: *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (syn. *Fusarium fujikuroi* Nirenberg), *Fusarium temperatum* Scaufl. & Munaut, *Fusarium subglutinans* sensu stricto, *Fusarium subglutinans* sensu lato (Wollenw. & Reinking) P.E. Nelson, Toussoun & Marasas, *Fusarium culmorum* (Wm. G. Sm). Sacc. and *Fusarium graminearum* Schwabe. The above-mentioned pathogens are producers of mycotoxins, which are particularly harmful, especially to warm-blooded animals.

In 2019-2020, the mycological analysis of kernels from *Zea mays* cobs was conducted. The plant material was collected from production fields, located in Poland, in the following towns: Mława, Żuromin, Zielona, Szreńsk, Radzików and in the vicinity of Leżajsk and Gdańsk. Research results show that fungi of the genus *Fusarium* commonly infect corn kernels. Among the obtained fungal isolates, the frequency of species belonging to the genus *Fusarium* was 39.01%. The percentage of *Fusarium subglutinans* sensu lato was 11.35%, while *Fusarium verticillioides* was 7.70%. The common occurrence and harmfulness of the above-mentioned factors of corn cob fusariosis indicates the need to search for solutions limiting the occurrence of this disease in *Zea mays* cultivation.

Zgnilizna twardzikowa (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) chmielu

Diana Czarnecka¹, Urszula Skomra¹

¹Institut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

e-mail: dczarnecka@iung.pulawy.pl

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary jest niszczyielskim i kosmopolitycznym patogenem roślin rolniczych, ozdobnych i dziko rosnących. Grzyb powoduje białą pleśń i wodnistą miękka zgniliznę zarówno na nadziemnych, jak i podziemnych częściach roślin. Zimuje w glebie lub w szczątkach roślinnych w postaci struktur przetrwalnikowych zwanych sklerotami [1]. Patogen ten rzadko powoduje choroby chmielu [2,3]. Objawy zwykle występują późną wiosną w warunkach chłodnej i wilgotnej pogody. Choroba rozwija się na pędach, w części położonej blisko powierzchni gleby lub tuż pod powierzchnią, a niekiedy objawy mogą występować również w wyższych częściach pędów (1-2 m) lub na liściach [2]. Występowaniu objawów zgnilizny twardzikowej na chmielu sprzyja uszkodzenie tkanek, np. podczas obsypywania glebą dolnych części pędów [3]. Na porażonych pędach pojawia się mokra zgnilizna, ze śladami białej grzybni, na której rozwijają się skleroty o nieregularnym kształcie i zróżnicowanej wielkości (5-25 mm × 2-7 mm) [3]. Porażone pędy więdną, co przy dużym nasileniu choroby może prowadzić do znacznych strat.

Zwalczanie zgnilizny twardzikowej jest trudne ze względu na dużą trwałość sklerot, które mogą przetrwać w glebie bez obecności roślin żywicielskich nawet kilka lat. W sprzyjających warunkach skleroty kiełkują i wytwarzają apotecja z zarodnikami workowymi, które są przenoszone przez wiatr, co powoduje dalsze rozprzestrzenianie choroby. W zwalczaniu zgnilizny twardzikowej ważną rolę odgrywają zabiegi agrotechniczne ograniczające nadmierne i długotrwałe uwilgotnienie gleby oraz sprzyjające cyrkulacji powietrza. Redukcji sklerot sprzyja również głęboka orka oraz usuwanie z plantacji porażonych roślin i ich resztek, a także odpowiednie zmianowanie. W przypadku niektórych gatunków uprawnych ważną rolę w zwalczaniu choroby odgrywają również fungicydy, niestety nie ma odpowiednich preparatów, które mogą być stosowane w uprawie chmielu.

W Polsce po raz pierwszy stwierdzono występowanie zgnilizny twardzikowej na chmielu w czerwcu 2021 r, na plantacji obsadzonej odmianami Lubelski oraz Magnum, zlokalizowanej w województwie lubelskim. Wstępną diagnozę przeprowadzono na podstawie objawów chorobowych na roślinach, w postaci więdnienia oraz mokrej zgnilizny dolnej części pędów. Z porażonych roślin pobrano fragmenty pędów z silnymi objawami nekrozy i gnicia, a także białawą grzybnią. Czyste kultury grzyba uzyskano poprzez kilkukrotne pasażowanie grzybni pobranej bezpośrednio z porażonych pędów oraz uzyskanej z pędów nekrotycznych wyłożonych na podłoże ½ PDA (DifcoTM) z dodatkiem 2,5 mg/l antybiotyku chlorotetracykliny (Sigma Aldrich). Przeprowadzono identyfikację mikroskopową, która potwierdziła, że sprawcą choroby jest *S. sclerotiorum*.

Literatura

7. Bolton MD, Thomma BP, Nelson BD (2006) *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of cosmopolitan pathogen. Mol. Plant Pathol. 7: 1-16.
8. Kropf SM, Putman ML, Serdani M, Twomey MC (2012) *Sclerotinia* Wilt of Hop (*Humulus lupulus*) Caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in the Pacific Northwest United States. Plant Dis 96: 583.
9. Mahaffee WF, Pethybridge SJ, Gent DH (2009) Compendium of Hop Diseases and Pests. APS Press, USA.

Sclerotinia wilt of hops (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary).

Diana Czarnecka¹, Urszula Skomra¹

¹ Institute of Soil Science and Plant Cultivation – State Research Institute, Department of Plant Breeding and Biotechnology, 8 Czarzoryskich Street, 24-100 Puławy, Poland

email: diana.czarnecka@gmail.com

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary is a destructive and cosmopolitan pathogen of agricultural, ornamental, and wild plants. The fungus causes white mold and watery soft rot on both above- and below-ground parts of the plants. It overwinters in the soil or in plant debris as sclerotia – the resting stage of the fungus [1]. This pathogen rarely causes disease on hops [2,3]. Symptoms usually occur in late spring under cool and wet weather conditions. The disease develops on the shoots, in the part close to the soil surface or just below the ground, and sometimes symptoms may also occur in the higher parts of the shoots (1-2 m) or on the leaves [2]. The *Sclerotinia* wilt symptoms on hops are favoured by tissue damage, e.g. during soil hilling around the plant shoots [3]. Disease symptoms appear as wet rot, with traces of white mycelium, on which sclerotia of irregular shape and varied size (5-25 mm × 2-7 mm) develop [3]. Infected shoots become wilt and dieback, which can cause significant economic losses in high intensity of the disease.

The control of *Sclerotinia* disease is difficult because of the high persistence of sclerotia, which can survive in the soil without the presence of host plants even for several years. Under favorable conditions, sclerotia germinate and produce apothecia with ascospores that are dispersed by wind causing the disease spread. An important role in the control of *Sclerotinia* play cultural practices that reduce excessive and prolonged soil moisture and promote air circulation. Sclerotia can also be reduced by deep ploughing, removing infected plants and plant residues from the plantation and by appropriate crop rotation. In the case of some crops fungicides can be effective in controlling the disease, unfortunately there are no suitable fungicides that can be used in hop cultivation.

In Poland, the occurrence of *Sclerotinia* wilt on hops was reported for the first time in June 2021, on Lubelski and Magnum cultivars in the Lublin province. Preliminary diagnosis was made on the basis of disease symptoms on plants in the form of wilting and wet rot of the lower part of shoots. Sections of shoots with strong necrosis and decay symptoms, as well as whitish mycelium were taken from infected plants. Pure cultures of the fungus were obtained by several passages of mycelium taken directly from infected shoots and that obtained from necrotic shoots placed on ½ PDA medium (Difco™) with the addition of 2.5 mg/l chlorotetracycline antibiotic (Sigma Aldrich). Microscopic identification was performed which confirmed that the disease was caused by *S. sclerotiorum*.

References

1. Bolton MD, Thomma BP, Nelson BD (2006) *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of cosmopolitan pathogen. Mol. Plant Pathol. 7: 1-16.
2. Kropf SM, Putman ML, Serdani M, Twomey MC (2012) *Sclerotinia* Wilt of Hop (*Humulus lupulus*) Caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in the Pacific Northwest United States. Plant Dis 96: 583.
3. Mahaffee WF, Pethybridge SJ, Gent DH (2009) Compendium of Hop Diseases and Pests. APS Press, USA.

Występowanie rdzy źdźbłowej w uprawach pszenicy i pszenżyta w Polsce

Grzegorz Lemańczyk¹, Karol Lisiecki¹, Robert Lamparski¹

¹ Politechnika Bydgoska, Katedra Biologii i Ochrony Roślin, Al. prof. S. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz

e-mail: Grzegorz.Lemanczyk@pbs.edu.pl

Rdza źdźbłowa zbóż i traw, powodowana przez grzyba *Puccinia graminis*, to jedna z potencjalnie najważniejszych pod względem ekonomicznym chorób zbóż na wszystkich kontynentach, powodująca straty w plonach ziarna sięgające 30-80%. W obrębie gatunku *P. graminis* wydzielono formy specjalne, z których każda jest przystosowana do pasożytowania na konkretnym gatunku gospodarza lub grupie roślin żywicielskich. Wśród nich największe znaczenie ma *P. graminis* f. sp. *tritici*, najczęściej porażająca pszenicę i pszenżyto, jednocześnie posiadając także zdolność do infekcji jęczmienia i żyta. W populacji patogena zachodzą jednak ciągłe zmiany. Pojawianie się nowych, wirulentnych patotypów *P. graminis*, dla dotychczas odpornych odmian zbóż, notowano we wszystkich rejonach uprawy pszenicy. Ocieplający się klimat może tworzyć lepsze warunki dla częstszego i niejednokrotnie epidemicznego występowania rdzy źdźbłowej. Ponadto ze względu na uodparnianie się *P. graminis* na fungicydy i tendencję do ograniczenia stosowania chemicznych środków ochrony roślin lub nawet ich zaniechanie, patogen ten może stanowić poważny problem. W związku z tym należało podjąć prace zmierzające do określenia stopnia zagrożenia ze strony rdzy źdźbłowej w Polsce. Głównym celem badań było określenie nasilenia występowania rdzy źdźbłowej w uprawach pszenicy i pszenżyta.

Badania dotyczące nasilenia występowania objawów chorobowych rdzy źdźbłowej zbóż i traw na pszenicy i pszenżycie prowadzono w latach 2021 i 2022 na polach produkcyjnych oraz poletkach doświadczalnych należących między innymi do Centralnego Ośrodka Badania Odmian Roślin Uprawnych (COBORU) oraz firm zajmujących się hodowlą zbóż, zlokalizowanych w różnych rejonach Polski, reprezentujących powierzchnię kraju i poszczególnych województw. Określano procent źdźbeł z objawami rdzy źdźbłowej. Oceny przeprowadzono w lipcu.

Ogólnie nasilenie objawów chorobowych rdzy źdźbłowej zbóż i traw było niewielkie. Więcej objawów choroby stwierdzono w 2021 roku. W obu latach obserwacji nie stwierdzono występowania objawów choroby zarówno na pszenicy jak i pszenżycie uprawianych na polach produkcyjnych. Wyraźne objawy rdzy źdźbłowej obserwowano na poletkach doświadczalnych prowadzonych przez COBORU oraz firmy zajmujące się hodowlą odmian zbóż. W 2021 roku na pszenicy więcej objawów rdzy źdźbłowej stwierdzono w województwie podkarpackim, następnie śląskim, świętokrzyskim, łódzkim, małopolskim, pomorskim, kujawsko-pomorskim, lubuskim, zachodniopomorskim i opolskim. Średnio mniej objawów chorobowych obserwowano na pszenżycie. Również na tym zbożu objawy choroby obserwowano głównie w 2021 roku, a najczęściej stwierdzono ich w województwie podkarpackim, następnie łódzkim, zachodniopomorskim, pomorskim i kujawsko-pomorskim.

The occurrence of stem rust in wheat and triticale crops in Poland

Grzegorz Lemańczyk¹, Karol Lisiecki¹, Robert Lamparski¹

¹Bydgoszcz University of Science and Technology, Department of Plant Biology and Protection, Al. prof. S. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz

e-mail: Grzegorz.Lemanczyk@pbs.edu.pl

Stem rust of cereals, caused by the fungus *Puccinia graminis*, is one of the potentially most economically important cereal diseases on all continents, causing losses among grain yields of 30-80%. Within the species of *P. graminis*, special forms have been distinguished, each of which is adapted to parasitize on a specific host species or a group of host plants. Among them, the most important is *P. graminis* f. sp. *tritici*, most often affecting wheat and triticale, while also having the ability to infect barley and rye. However, there are constant changes in the pathogen population. The appearance of new, virulent pathotypes of *P. graminis*, for the so far resistant varieties of cereals, was recorded in all areas of wheat cultivation. A changing, warming climate may create better conditions for a more frequent and often epidemic occurrence of stem rust of cereals. In addition, due to the resistance of *P. graminis* to fungicides and the tendency to limit the use of chemical plant protection products or even to abandon them, this pathogen can become a serious problem. Therefore, it was necessary to undertake works aimed at determining the degree of risk from stem rust in Poland. The main aim of the research was to determine the intensity of the occurrence of stem rust of cereals in wheat and triticale crops.

Research on the severity of the disease symptoms of stem rust in cereals and grasses on wheat and triticale was carried out in the years 2021 and 2022 on production fields and experimental plots belonging, among others, to the Research Centre for Cultivar Testing (COBORU) and companies involved in the cultivation of cereals, located in various regions of Poland, representing the area of the country and individual voivodships. The percentage of stalks showing signs of stem rust of cereals was determined. The evaluation was carried out in July.

In general, the severity of the symptoms of stem rust of cereals was low. More symptoms of the disease were found in 2021. In both years of observation, no symptoms of the disease were found on both wheat and triticale grown in production fields. Clear symptoms of stem rust were observed on the experimental plots run by COBORU and companies dealing with the cultivation of cereal varieties. In 2021, more symptoms of stem rust of cereals on wheat were found in the Podkarpackie, then Śląskie, Świętokrzyskie, Łódzkie, Małopolskie, Pomorskie, Kujawsko-Pomorskie, Lubuskie, Zachodniopomorskie and Opolskie voivodships. On average, fewer disease symptoms were observed in triticale. Also in this cereal, symptoms of the disease were observed mainly in 2021, and most of them were found in the Podkarpackie, then Łódzkie, Zachodniopomorskie, Pomorskie and Kujawsko-Pomorskie voivodships.

Grzyby zasiedlające nadziemne organy pigwowca japońskiego (*Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach.) i ich wzajemne oddziaływanie

Ewa Król¹, Barbara Abramczyk², Beata Zimowska¹

¹ Uniwersytet Przyrodniczy, Katedra Ochrony Roślin, ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin

² Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa-Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii Rolniczej, ul. Czarторыskich 8, 24-100 Puławy

e-mail: ewa.krol@up.lublin.pl

Pigwowiec japoński należy do rodziny Rosaceae i uprawiany jest w wielu krajach na całym świecie. Ceniony jest ze względu na walory ozdobne oraz bardzo wartościowe owoce, które są aromatyczne, bogate w witaminę C, pektyny i liczne związki biologicznie czynne. Uważany jest za roślinę stosunkowo zdrową, a w literaturze znajdują się nieliczne informacje na temat patogenów zagrażających tej uprawie.

W ostatnich latach, w okolicach Lublina pojawiły się ekologiczne plantacje pigwowca japońskiego, co zainspirowało badania mające na celu ocenę zdrowotności krzewów i identyfikację grzybów, które mogą stwarzać potencjalne zagrożenie dla nadziemnych organów tej rośliny. Obserwacje zdrowotności krzewów na plantacjach prowadzono w latach 2020-2021. Każdorazowo notowano zaobserwowane objawy chorobowe na liściach, pędach i owocach. Następnie oznaczano grzyby na podstawie widocznych oznak etiologicznych lub analizy mykologicznej chorych organów.

Okazało się, że objawy chorobowe występowały sporadycznie na początku okresu wegetacji, następnie nasilały się wraz z upływem czasu, jednak nie stanowiły poważnego problemu w uprawie pigwowca japońskiego. Na liściach obserwowano najczęściej różnego rodzaju plamistości, a na owocach oprócz plamistości obserwowano objawy zgnilizny i mumifikacji. Z kolei na pędach zanotowano zasychanie wierzchołków oraz nekrozy i zrakowacenia, ale występowały one rzadko. Do grzybów najczęściej obserwowanych na wszystkich badanych organach należały *Alternaria alternata*, *Epicoccum nigrum*, *Chaetomium globosum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Trichoderma koningii* oraz różne gatunki rodzaju *Fusarium*, głównie *F. avenaceum* i *F. sporotrichioides*. Ponadto, owoce najczęściej zasiedlane były przez *Botrytis cinerea*, *Monilinia fructigena*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium expansum*, *Trichothecium roseum* i *Neofabraea vagabunda*. Na liściach stwierdzono obecność *Septoria cydoniae*, *Phyllosticta chaenomelina*, *Diplocarpon mespili* i *Phoma* spp., a na pędach głównie *B. cinerea*.

Na szczególną uwagę zasługuje izolowanie ze wszystkich badanych organów kultur nowego gatunku, tj. *Diaporthe* sp., bowiem dotychczas brakowało doniesień o występowaniu tego grzyba na pigwowcu japońskim. Izolaty tego gatunku uzyskiwano głównie z owoców z objawami mumifikacji, ale nieliczne z nich pochodziły także z liści i pędów. Wstępne badania genetyczne wskazały, że charakteryzują się one dużym podobieństwem do izolatów *Diaporthe eres*. Badania nad oddziaływaniem wybranych grzybów, najczęściej zasiedlających nadziemne organy pigwowca japońskiego, na *D. eres* wykazały, że jest on ograniczany przez większość z nich. Zatem, ten potencjalny patogen nie stwarzał dużego zagrożenia w ekologicznej uprawie pigwowca japońskiego w latach badań.

Fungi inhabiting the aboveground organs of the Japanese Quince (*Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach.) and their interaction

Ewa Król¹, Barbara Abramczyk², Beata Zimowska¹

¹ University of Life Sciences, Department of Plant Protection, Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin

² Institute of Soil Science and Plant Cultivation-State Research Institute, Department of Agricultural Microbiology, Czarторыskich 8, 24-100 Puławy

e-mail: ewa.krol@up.lublin.pl

Japanese Quince belongs to the Rosaceae family and is cultivated in many countries around the world. It is valued for its decorative qualities and very valuable fruits, which are aromatic, rich in vitamin C, pectins and numerous biologically active compounds. It is considered a relatively healthy plant, and there is little information in the literature about pathogens that threaten this crop.

In recent years, ecological Japanese Quince plantations have appeared in the vicinity of Lublin, which inspired research aimed at assessing the health of shrubs and identifying fungi that may pose a potential threat to the above-ground organs of this plant. In the years 2020-2021 the observations of the shrubs health in plantations were carried out. The observed disease symptoms on leaves, shoots and fruits were noted each time. Then, the fungi were identified on the basis of visible etiological signs or mycological analysis of diseased organs. It turned out that the symptoms appeared sporadically at the beginning of the growing season, then increased with time, but they were not a serious problem in the cultivation of Japanese Quince. Most often, various types of spots were observed on leaves, and on fruits, apart from spots, symptoms of rot and mummification were observed. On the other hand, drying of the tops as well as necroses and cankers were noted on the shoots, but they were rare. *Alternaria alternata*, *Epicoccum nigrum*, *Chaetomium globosum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Trichoderma koningii* and various species of the genus *Fusarium*, mainly *F. avenaceum* and *F. sporotrichioides* were the most frequently observed fungi in all examined organs. Moreover, the fruits were most often inhabited by *Botrytis cinerea*, *Monilinia fructigena*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium expansum*, *Trichothecium roseum* and *Neofabraea vagabunda*. *Septoria cydoniae*, *Phyllosticta chaenomelina*, *Diplocarpon mespili* and *Phoma* spp. were found on leaves, and on shoots mainly *B. cinerea*.

Particularly noteworthy is the isolation of the new species, i.e. *Diaporthe* sp., from all examined plant organs, as there have been no reports of this fungus occurrence on Japanese Quince so far. Isolates of this species were obtained mainly from fruits with symptoms of mummification, but a few of them were also obtained from leaves and shoots. Initial genetic studies indicated that they were most similar to *Diaporthe eres* isolates. Studies on the effect of selected fungi, most often inhabiting the aboveground organs of Japanese Quince, on *D. eres* have shown that it is limited by most of them. Thus, this potential pathogen did not pose much of a threat to the ecological cultivation of Japanese Quince during the research years.

Fenotyp roślin rzepaku z objawami porażenia chorobotwórczym grzybem *Sclerotinia sclerotiorum* – porównanie czterech metod inokulacji

Yuliia Kobayenko^{1,2}, Joanna Kaczmarek¹, Małgorzata Jędrzycka¹

¹ Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań, Polska

² Lviv National Environmental University, Volodymyra Velukoho Street, 1, Dublyany, Lviv Region, 30831 Ukraine

e-mail: mjed@igr.poznan.pl

Chorobotwórczy grzyb *Sclerotinia sclerotiorum* jest groźnym patogenem prawie wszystkich roślin uprawnych z wyjątkiem zbóż [1]. Brak silnych źródeł odporności uwarunkowanych genetycznie, znacząca zależność porażenia roślin od okresu pojawu zarodników workowych i uzależnienie od warunków pogodowych oraz wycofanie licznych fungicydów do zwalczania patogena powodują, iż ograniczanie jego działania jest niezwykle trudne. Nowe kierunki hodowli roślin uprawnych zwracają uwagę na znaczący wpływ pokroju roślin oraz sposobów ich uprawy nasilenie chorób infekcyjnych. Akcje COST [2] zachęcają do wprowadzania metod fenotypowania. Finansowane są projekty międzynarodowe inicjujące fenotypowanie wysokoprzepustowe [3–4]. Istotne jest by badaniami fenotypowymi objęto także zgniliznę twardzikową – chorobę, którą wywołuje grzyb *S. sclerotiorum*. Celem doświadczenia była ocena efektów fenotypowych wywoływanych przez *S. sclerotiorum* po zastosowaniu czterech metod inokulacji w warunkach polowych.

Badania wykonano w 2022 roku na polu doświadczalnym IGR PAN w układzie bloków losowanych z zastosowaniem 16 odmian rzepaku ozimego. Odmiany rzepaku wysiano na poletkach o powierzchni 22,5 m², zgodnie z normą wysiewu zalecaną dla odmiany. Zabiegi agrotechniczne wykonano zgodnie z dobrą praktyką rolniczą. Zastosowano cztery metody inokulacji, w tym: 1) opryskiwanie shomogenizowaną grzybnią *S. sclerotiorum* w stężeniu 1×10^7 fragmentów w 1 ml i posypywaniem płatkami rzepaku, 2) opryskiwanie shomogenizowaną grzybnią *S. sclerotiorum* w stężeniu jw. i posypywaniem confetti przygotowanym z bibuły filtracyjnej, 3) inokulacją krążkami agaru przerośniętymi grzybnią *S. sclerotiorum*, 4) inokulacją ziarniakami pszenicy przerośniętymi grzybnią *S. sclerotiorum*. Wszystkie zabiegi wykonano w pełni kwitnienia rzepaku (faza BBCH 65).

W chwili opracowywania streszczenia na roślinach rzepaku pojawiły się objawy porażenia grzybem *S. sclerotiorum*. Szczegółowe wyniki pomiarów biometrycznych roślin będą znane w lipcu br. Wyniki i wnioski z analiz przedstawimy na konferencji PTFit.

Doświadczenie założono w ramach dotacji na realizację badań na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej przyznanego IGR PAN przez MRiRW decyzją nr DHR.hn.802.2.2022 zadanie 25. W doświadczeniu wykorzystano trzy dodatkowe metody inokulacji, dzięki możliwości skorzystania z programu ISPP Resilience Bursary Fund oraz programu wsparcia dla naukowców z Ukrainy PAS/NAS.

Literatura

1. Sahran GS, Mehta N. (2008) *Sclerotinia Diseases of Crop Plants: Biology, Ecology and Disease Management*. Springer Science & Business Media B.V. ISBN 978-1-4020-8407-2 e-ISBN 978-1-4020-8408-9
2. COST Phenomen-ALL http://www.cost.eu/COST_Actions/fa/FA1306/
3. EPPN2020 <https://eppn2020.plant-phenotyping.eu/>
4. EMPHASIS <https://emphasis.plant-phenotyping.eu/>

Phenotype of oilseed rape plants with symptoms of infection by the pathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum* – the comparison of four inoculation methods

Yuliia Kobayrenko^{1,2}, Joanna Kaczmarek¹, Małgorzata Jędrzycka¹

¹ Institute of Plant Genetics, Polish Academy of Sciences, Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań, Poland

² Lviv National Environmental University, Volodymyra Velukoho Street, 1, Dublyany, Lviv Region, 30831 Ukraine

e-mail: mjed@igr.poznan.pl

The fungus *Sclerotinia sclerotiorum* is a damaging pathogen of almost all crops, except for cereals [1]. The lack of strong sources of genetically determined resistance, the significant dependence of plant infestation on the period of ascospore release and strong impact of weather conditions, as well as the withdrawal of numerous fungicides, make it very difficult to control the pathogen. The new directions of plant breeding draw attention to the significant influence of plant morphology and the methods of crop cultivation on the intensity of infectious diseases. Currently COST actions encourage the introduction of phenotyping methods [2]. International projects that initiate high-throughput phenotyping have been initiated [3–4]. *Sclerotinia* stem rot, caused by the fungus *S. sclerotiorum*, also should be included into phenotyping programs. The aim of the experiment was to evaluate the phenotypic effects of *S. sclerotiorum* after the application of four inoculation methods under field conditions.

The research was done in 2022 in the experimental field of IPG PAS in the completely randomized block system with the use of 16 cultivars of winter oilseed rape. Individual plots of oilseed rape were of 22.5 sq. m area each. Plants were sown according to the recommendations for each cultivar. Agrotechnical treatments were performed in accordance with good agricultural practice. Four inoculation methods were used, including: 1) spraying with homogenized mycelium of *S. sclerotiorum* at a concentration of 1×10^7 fragments in 1 ml and sprinkling leaves with rapeseed petals, 2) spraying with homogenized mycelium of *S. sclerotiorum* at a concentration given above. and sprinkling with filter paper discs, 3) inoculation with agar discs overgrown with the mycelium of *S. sclerotiorum*, 4) inoculation with wheat kernels overgrown with *S. sclerotiorum*. All treatments were done at full flowering stage of oilseed rape (BBCH 65).

At the time of the abstract preparation, symptoms of *S. sclerotiorum* infection appeared on oilseed rape plants. Results of biometric measurements will be known in July this year.

The experiment was established as a part of the research project for biological progress in plant production granted to IPG PAS by the Ministry of Agriculture and Rural Development, based on the decision no. DHR.hn.802.2.2022, task 25. Three additional inoculation methods were used in the experiment, thanks to the ISPP Resilience Bursary Fund program and PAS / NAS support program for scientists from Ukraine.

References

1. Sahran GS, Mehta N. (2008) *Sclerotinia* Diseases of Crop Plants: Biology, Ecology and Disease Management. Springer Science & Business Media B.V. ISBN 978-1-4020-8407-2 e-ISBN 978-1-4020-8408-9
2. COST Phenomen-ALL http://www.cost.eu/COST_Actions/fa/FA1306/
3. EPPN2020 <https://eppn2020.plant-phenotyping.eu/>
4. EMPHASIS <https://emphasis.plant-phenotyping.eu/>

Ocena zróżnicowania genetycznego szczepów *Pseudomonas syringae* powodujących kanciastą plamistość ogórka (*Cucumis sativus* L.)

Renata Słomnicka¹, Helena Olczak-Woltman¹, Magdalena Przerwa¹, Angelo Mazzaglia², Grzegorz Bartoszewski¹

¹ Szkoła Główna Gospodarstwa Wielkiego w Warszawie, Katedra Genetyki Hodowli Biotechnologii Roślin, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

² University of Tuscia (DAFNE), Department of Agriculture and Forest Sciences, Via San Camillo de Lellis snc, Viterbo, Italy

e-mail: renata_slomnicka@sggw.edu.pl

Bakteryjna kanciasta plamistość to jedna z groźniejszych chorób w uprawie polowej ogórka, a jej sprawcą są bakterie należące do gatunku *Pseudomonas syringae*. W Polsce choroba ta powoduje głównie uszkodzenia liści, co sprzyja wtórnemu porażeniu roślin przez mączniaka rzekomego, prowadząc do strat plonów. Źródłem pierwotnych infekcji są resztki porażonych roślin i nasiona, a nasileniu choroby sprzyja duża wilgotność powietrza. Kolekcja szczepów *Pseudomonas syringae* patogenicznych dla ogórka była badana pod kątem stopnia wirulencji i zróżnicowania genetycznego. Spośród badanych szczepów cztery zostały wyizolowane z liści roślin ogórka gruntowego rosnącego w Polsce, a pozostałe pochodziły z europejskich banków patogenów, głównie z Czech i Włoch. Testy patogeniczności wykonano w fitotronie na młodych roślinach w fazie dwóch liści właściwych, zaś zróżnicowanie genetyczne szczepów analizowano metodą MLST. Po przeprowadzeniu testów patogeniczności podzielono szczepy na dwie grupy, charakteryzujące się średnim i wysokim stopniem wirulencji. Przystępując do porównania sekwencji MLST do genomów *P. syringae* dostępnych w bazie NCBI stwierdzono, że 15 szczepów wykazuje podobieństwo do patowaru *lachrymans* (grupa filogenetyczna 3), 12 do pv. *syringae* (grupa filogenetyczna 2), a trzy szczepy do patowarów należących do grupy filogenetycznej 1. Wszystkie szczepy wyizolowane z liści ogórka gruntowego rosnącego w Polsce wykazały największe podobieństwo do szczepów patowaru *syringae*. W kolejnym etapie badań, 10 reprezentatywnych szczepów wybrano do sekwencjonowania *de novo* przy użyciu metody Oxford NanoPore MiniON i Illumina MiSeq. Kompletne złożenie chromosomu bakteryjnego otrzymano dla 9 z nich. U kilku szczepów stwierdzono obecność plazmidów i dokonano ich złożenia. Otrzymane wyniki pokazują jednoznacznie duże zróżnicowanie szczepów *P. syringae* powodujących objawy kanciastej plamistości na ogórku i mogą przyczynić się do opracowania nowych metod identyfikacji szczepów *P. syringae*.

Badania realizowano w ramach działania naukowego MINIATURA 3 numer 2019/03/X/NZ9/00890.

The genetic and genomic assessment of *Pseudomonas syringae* strains causing angular leaf spot on cucumber (*Cucumis sativus* L.)

Renata Słomnicka¹, Helena Olczak-Woltman¹, Magdalena Przerwa¹, Angelo Mazzaglia², Grzegorz Bartoszewski¹

¹ Warsaw University of Life Sciences, Dept. of Plant Genetics, Breeding and Biotechnology, Nowoursynowska 159, 02-776, Warsaw, Poland

² University of Tuscia (DAFNE), Dept. of Agriculture and Forest Sciences Via San Camillo de Lellis snc, Viterbo, Italy

e-mail: renata_slomnicka@sggw.edu.pl

Bacterial angular leaf spot is one of the most severe cucumber diseases, caused by *Pseudomonas syringae*. It causes mainly leaf damages which favours later downy mildew infections resulting in lower yield. A set of *Pseudomonas syringae* strains pathogenic to cucumber were studied. Among them four were isolated from field-collected cucumber leaves in Poland and the other were obtained from plant pathogen collections in Europe, mainly from Czech Republic and Italy. Pathogenicity tests were performed in growth chamber conditions on young cucumber plants with two fully expanded leaves. To assess genetic diversity of the strains MLST analysis was carried out. The pathogenicity tests divided strains into two groups of high and intermediate virulence. Alignment of the MLST sequences to the *P. syringae* genomes available at NCBI GenBank database and phylogenetic similarity revealed that 15 of them shows the highest similarity with the genomes of pv. *lachrymans* (phylogroup 3), 12 with pv. *syringae* (phylogroup 2), and 3 strains with the other pathovars (phylogroup 1). Interestingly, all the strains isolated in Poland from field-grown cucumber leaves showed the highest similarity with pv. *syringae* strains. Next, ten representative strains were selected for *de novo* genome sequencing using Oxford NanoPore MiniON and Illumina MiSeq technologies. For nine out of ten strains complete chromosome assemblies were obtained. For several strains plasmids were detected and assembled. This study clarifies doubts about the genetic diversity of *P. syringae* strains causing cucumber angular leaf spot disease. It may also facilitate the development of diagnostic methods helping in *P. syringae* strain identification and classification.

This research was funded by the Polish National Science Centre MINIATURA 3 project No. 2019/03/X/NZ9/00890.

Choroby wirusowe kukurydzy w ekologicznym i integrowanym systemie uprawy

Diana Czarnecka, Anna Czubacka, Monika Agacka-Mołdoch, Anna Trojak-Goluch

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin, ul. Krańcowa 8, 24-100 Puławy

e-mail: dczarnecka@iung.pulawy.pl

Kukurydza (*Zea mays* L.) jest coraz chętniej uprawiana przez polskich rolników i bardzo często zastępuje uprawy ozime po ich wymarznieniu. Gatunek ten jest szeroko użytkowany, zarówno na pasze jak i kiszonki, a także do uzyskiwania biopaliw [1]. Z uwagi na wszechstronne zastosowanie kukurydzy w różnych gałęziach gospodarki szacuje się, że jej areał może wzrosnąć w nadchodzących latach i że uprawa tego gatunku w Polsce cieszyć się będzie coraz większym zainteresowaniem. Choroby wirusowe kukurydzy w warunkach naszego kraju często przebiegają bezobjawowo, jednak infekcje te prowadzą do zahamowania wzrostu roślin, a ostatecznie do zmniejszenia plonu. Dotychczas prowadzone w Polsce prace badawcze wykazały występowanie kilku wirusów porażających kukurydzę [2, 3]. Ponieważ wśród rolników rośnie zainteresowanie uprawami ekologicznymi kukurydzy, a w literaturze brakuje dostatecznych informacji na temat występowania chorób wirusowych w tych uprawach, a także porównania z powszechnie stosowanym integrowanym systemem produkcji, toteż podjęto próbę zbadania tego tematu.

W pracy określano występowanie sześciu wirusów (BYDV-PAV, BYDV-MAV, CYDV-RPV, MDMV, SCMV, WSMV) na trzech odmianach kukurydzy: Ambrosini, Ricardinio, Smolito w ekologicznym i integrowanym systemie produkcji. Badania prowadzono przez okres trzech lat. Na przełomie lipca i sierpnia do analizy pobierano liście kukurydzy z 30 losowo wybranych roślin z każdej odmiany. Do detekcji wirusów wykorzystano test immunoenzymatyczny DAS-ELISA z zestawem specyficznych przeciwciał firmy Bioreba, Loewe i Agdia. Uzyskane wyniki wykazały że uprawy ekologiczne kukurydzy na przestrzeni 3 lat ulegały większemu porażeniu wirusowemu w porównaniu z systemem integrowanym. Wirusami dominującymi w ekologicznej uprawie były WSMV i BYDV-MAV, natomiast w uprawie integrowanej obserwowano większe zróżnicowanie występowania wirusów, ale w niższym nasileniu. Spośród testowanych odmian kukurydzy, wyższemu porażeniu ulegała odmiana Smolito w ekologicznej uprawie, a w integrowanej - Ambrosini. Niezależnie od zastosowanego systemu uprawy czy roku badań w badanym materiale nie wykryto wirusów CYDV-RPV i MDMV.

W ochronie upraw kukurydzy przed chorobami wirusowymi właściwa metoda diagnostyczna umożliwia ocenę zdrowotności badanych roślin, a także pozwala ograniczyć rozprzestrzenianie się chorób wirusowych na plantacji, wówczas kiedy są one trudne do odróżnienia od chorób abiotycznych bądź ich przebieg jest bezobjawowy.

Literatura

1. Książak J, (2012) Doskonalenie ważniejszych elementów agrotechniki kukurydzy i sorga. *Studia i Raporty PIB*. 30(4): 105-114.
2. Trzmiel K, Lubik M, (2011) Występowanie wirusów: żółtej karłowatości jęczmienia MAV, żółtej karłowatości jęczmienia – PAV, żółtej karłowatości zbóż – RPV na kukurydzy. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 51 (1): 311–314.
3. Trzmiel K, Szydło W, (2012) Występowanie i charakterystyka wirusa smugowatej mozaiki pszenicy (*Wheat streak mosaic virus*, WSMV) na kukurydzy w Polsce. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 52 (3): 707–713.

Diseases caused by viruses of maize in organic and integrated farming systems

Diana Czarnecka, Anna Czubacka, Monika Agacka-Mołdoch, Anna Trojak-Goluch

Institute of Soil Science and Plant Cultivation – State Research Institute, Department of Plant Breeding and Biotechnology, 8 Czartoryskich Street, 24-100 Puławy, Poland

e-mail: dczarnecka@iung.pulawy.pl

The cultivation of maize (*Zea mays* L.) is becoming more and more popular among Polish farmers and very often it replaces winter crops after their frost has passed. This species is widely used, both for fodder and silage as well as for obtaining biofuels [1]. Due to the versatile use of maize in various branches of the industry, it is estimated that its acreage may increase in the coming years and this species will be grown more and more in Poland. In the conditions of our country viral diseases of maize are often asymptomatic but these infections lead to inhibition of plant growth and ultimately to reduction of the yield. Several viruses infecting maize have been reported in Poland [2, 3]. There is a growing interest among farmers in organic maize cultivation and simultaneously there is insufficient information in the literature on the presence of virus diseases in such crops.

Therefore, an attempt was made to investigate the incidence of viruses in organic maize in comparison with the commonly used integrated production system. In this study, the occurrence of six viruses (BYDV-PAV, BYDV-MAV, CYDV-RPV, MDMV, SCMV, WSMV) was determined on three maize cultivars: Ambrosini, Ricardinio, Smolitop under organic and integrated production system. The study was conducted over a period of three years. In late July and early August, maize leaves from 30 randomly selected plants of each cultivar were collected for analysis. For virus detection, the DAS-ELISA immunoenzymatic test with a set of specific antibodies from Bioreba, Loewe and Agdia was used. The results showed that organic maize crops were more infected with viruses over a period of 3 years compared to the integrated system. The dominant viruses in the organic cultivation were WSMV and BYDV-MAV, while in the integrated cultivation system, a greater diversity of viruses was observed but fewer plants were infected. Among the tested cultivars, Smolitop was more infected in organic farming and Ambrosini in integrated farming. Regardless of the applied cultivation system or the year of the study, CYDV-RPV and MDMV viruses were not detected in the tested plant material.

In the protection of maize crops against viral diseases, a proper diagnostic method allows the assessment of the health status of tested plants. It also allows to limit the spread of viral diseases in the plantation when they are difficult to distinguish from abiotic diseases or their course is asymptomatic.

References

1. Książak J (2012) Improvement of more important elements of maize and sorghum agrotechnics (in Polish). *Studia i Raporty PIB*. 30(4): 105-114.
2. Trzmiel K, Lubik M (2011) Incidence of *Barley Yellow Dwarf Virus MAV*, *Barley Yellow Dwarf Virus - PAV*, *Cereal Yellow Dwarf Virus - RPV* on maize (in Polish). *Progress in Plant Protection* 51 (1): 311-314.
3. Trzmiel K, Szydło W (2012) Occurrence and characterization of *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) on maize in Poland (in Polish). *Progress in Plant Protection* 52 (3): 707-713.

Aceria tosichella – nowy wektor wirusa mozaiki stokłosy (brome mosaic virus, BMV)

Katarzyna Trzmiel¹, Wiktoria Szydło²

¹ Instytut Ochrony-Roślin-Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Wirusologii i Bakteriologii, ul. Węgorka 20, 60-318 Poznań

² Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii, Pracownia Ekologii Populacyjnej i Centrum Zaawansowanych Technologii, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 10, 61-614 Poznań
e-mail: k.trzmiel@iorpib.poznan.pl

Wirus mozaiki stokłosy (*Brome mosaic virus*, BMV), przedstawiciel rodzaju *Bromovirus* w rodzinie Bromoviridae, stanowi dogodny model badań molekularnych. Opublikowane badania wykazały korzystny wpływ infekcji BMV na zwiększenie tolerancji na stres suszy [1] oraz negatywny wpływ i znaczącą redukcję plonu (61%) u pszenicy zainfekowanej BMV-OH [3]. BMV poraża wiele roślin, w tym wszystkie gatunki uprawne zbóż, rozprzestrzenia się głównie przez wektory owadzie - skrzyponki z rodzaju *Oulema* i *Phylotrella*. Wykrycie naturalnej infekcji mieszanej BMV i wirusa smugowatej mozaiki pszenicy (WSMV) w roślinach pszenżyta [4] zrodziło pytanie o występowanie wspólnego wektora BMV i WSMV.

Celem niniejszych badań było sprawdzenie możliwości przenoszenia BMV przez szpecielela *Aceria tosichella* (ang. wheat curl mite, WCM) - wektora WSMV. W prowadzonych doświadczeniach wykorzystano polski izolat BMV-Sr [5], linię MT-1 WCM [6] oraz jęczmień ozimy odm. Bursztyn. Zdolność przenoszenia wirusa przez WCM MT-1 oceniano na podstawie transferów doświadczalnych w warunkach szklarniowych. Wolne od wirusów szpecielele przenoszono ręcznie na zainfekowane BMV-Sr rośliny i pozostawiano do swobodnego żerowania przez okres 2-3 tygodni w celu nabycia wirusa. Zainfekowane szpecielele, z populacji uprzednio testowane RT-PCR, przenoszono (po 10, 5, 3 oraz 1 samicy) na zdrowe rośliny (12 BBCH) i pozostawiano w szczelnych izolatorach, w standardowych warunkach szklarniowych. Ocenę porażek wykonywano po ok. 35 dniach z użyciem DAS-ELISA, RT-PCR ze specyficznymi 3 parami starterów komplementarnych do każdej z nici RNA BMV [5] oraz Western Blot. Infekcyjność wykrywanych cząstek BMV sprawdzono poprzez test biologiczny młodych siewek jęczmienia. Źródłem inokulum były chore rośliny po żerowaniu WCM - MT1.

Wyniki przeprowadzonych badań potwierdziły zdolność przenoszenia BMV nawet przez pojedyncze osobniki szpecieleli. Wyniki sekwencjonowania potwierdziły zgodność uzyskanych i wzorcowych sekwencji nukleotydów BMV-Sr. Charakterystyczne objawy mozaiki liści jęczmienia zaobserwowano około 10 dpi. Prezentowane wyniki stanowią pierwsze na świecie doniesienie o możliwości przenoszenia BMV przez szpecielele.

Literatura

1. Xu P, Chen F, Mannas JP, Feldman T, Sumner LW, Roosinck MJ (2008) Virus infection improves drought tolerance. *New Phytologist* 180: 911–921.
2. Hodge BA, Salgado JD, Paul A, Stewart LR (2019) Characterization of an Ohio isolate of Brome mosaic virus and its impact on the development and yield of soft red winter wheat. *Plant Dis.* 103: 1101-1111.
3. Trzmiel K, Szydło W, Zarzyńska-Nowak A, Jeżewska M (2015) First report of Brome mosaic virus (BMV) and Wheat streak mosaic virus (WSMV) co-infection in triticale plants in Poland. *Plant Dis.* 99 (9): 1290.
4. Trzmiel K, Zarzyńska-Nowak A, Lewandowska M, Szydło W (2016). Identification of new Brome mosaic virus (BMV) isolates systemically infecting *Vigna unguiculata* L. *Eur J Plant Pathol* 145: 233–238.
5. Skoracka A, Lewandowski M, Rector BG, Szydło W, Kuczyński L (2017) Spatial and host-related variation in prevalence and population density of wheat curl mite (*Aceria tosichella*) cryptic genotypes in agricultural landscapes. *PLoS ONE* 12:e0169874.

***Aceria tosichella* – a new vector of brome mosaic virus (BMV)**

Katarzyna Trzmiel¹, Wiktor Szydło²

¹ Institute of Plant Protection Research- National Research Institute, Department of Virology and Bacteriology, ul. W. Węgorka 20, 60-318 Poznan

² Adam Mickiewicz University, Poznań, Faculty of Biology AMU, Population Ecology Lab and Advanced Technology, , ul. Uniwersytetu Poznańskiego 10, 61-614 Poznan

e-mail: k.trzmiel@iorpib.poznan.pl

Brome mosaic virus (BMV), a type member of the genus *Bromovirus* in the Bromoviridae family, is a convenient model for molecular studies. The published papers showed both a beneficial effect of BMV infection on plants by increasing their tolerance to drought stress [1] and a negative effect and a significant, reaching up to 61%, reduction in grain yield harvested from wheat plants infected with BMV-OH [3]. BMV infects many plants, including all cereal crops, and is spread by insect vectors mainly from the genus *Oulema* and *Phylotrella*. The natural incidence of mixed infection of BMV and wheat streak mosaic virus (WSMV) in triticale plants [4] raised the question of the possibility of the transmission by a common vector.

The aim of this study was to test the possibility of BMV transmission by *Aceria tosichella* (wheat curl mite, WCM) - WSMV vector. Polish isolate BMV-Sr [5], WCM lineage MT-1 [6] and winter barley cv. Bursztyn were used in this study. The virus transmissibility by WCM MT-1 was assessed on the basis of experimental transfers under greenhouse conditions. The non-viruliferous mites were manually transferred to BMV-Sr infected plants and left for 2-3 weeks, for virus acquisition and to reproduce. Then, infected WCM MT-1, from the population previously tested with RT-PCR, were transferred by hand (by 10, 5, 3 and 1 adult females) to healthy plants (12 BBCH) and left in mesh cages under standard greenhouse conditions. After ~35 days the plants were checked for mite population presence and tested for BMV by DAS-ELISA, RT-PCR with 3 pairs of specific primers complementary to each of BMV RNA strands [5] and Western Blot. The infectivity of the detected BMV particles was checked by additional bioassay of young barley seedlings. The inoculum source was infected plants after WCM MT-1 feeding.

The results of the conducted research confirmed the ability to transmit BMV even by single individuals of mite. The sequencing results confirmed the agreement of the obtained and standard BMV-Sr nucleotide sequences. The characteristic symptoms of leaf mosaic were observed ~10 dpi. This is the first report of BMV transmission via WCM.

References

1. Xu P, Chen F, Mannas JP, Feldman T, Sumner LW, Rooinck MJ (2008) Virus infection improves drought tolerance. *New Phytologist* 180: 911–921.
2. Hodge BA, Salgado JD, Paul A, Stewart LR (2019) Characterization of an Ohio isolate of Brome mosaic virus and its impact on the development and yield of soft red winter wheat. *Plant Dis.* 103: 1101-1111.
3. Trzmiel K, Szydło W, Zarzyńska-Nowak A, Jeżewska M (2015) First report of Brome mosaic virus (BMV) and Wheat streak mosaic virus (WSMV) co-infection in triticale plants in Poland. *Plant Dis.* 99 (9): 1290.
4. Trzmiel K, Zarzyńska-Nowak A, Lewandowska M, Szydło W (2016). Identification of new Brome mosaic virus (BMV) isolates systemically infecting *Vigna unguiculata* L. *Eur J Plant Pathol* 145: 233–238.
5. Skoracka A, Lewandowski M, Rector BG, Szydło W, Kuczyński L (2017) Spatial and host-related variation in prevalence and population density of wheat curl mite (*Aceria tosichella*) cryptic genotypes in agricultural landscapes. *PLoS ONE* 12:e0169874.

Charakterystyka molekularna izolatów wirusa łagodnej żółtaczki brzegów liści truskawki wykrytego po raz pierwszy w Polsce

Mirosława Cieślińska¹, Dorota Starzec¹, Ewa Hennig²

¹ Instytut Ogrodnictwa - PIB, Zakład Ochrony Roślin, ul Pomologiczna 13a, 96-100 Skierniewice

² Główny Inspektorat Ochrony Roślin i Nasiennictwa, Centralne Laboratorium, ul. Żwirki i Wigury 73, 87-100 Toruń

e-mail: miroslawaw.cieslinska@inhort.pl

Wirus łagodnej żółtaczki brzegów liści truskawki (*Strawberry mild yellow edge virus*, SMYEV) z rodzaju Potexvirus (rodzina Alphaflexiviridae) występuje na całym świecie, często w infekcji mieszanej z innymi wirusami powodując karłowatość, deformację liści, żółknięcie tkanki między nerwami i straty w plonie owoców sięgające 30%. W ostatnich latach, wzrasta w Polsce zagrożenie ze strony SMYEV, co może mieć związek z ociepleniem klimatu sprzyjającym rozwojowi głównego wektora wirusa, mszycy *Chaetosiphon fragaefolii*.

Na podstawie zróżnicowania sekwencji nukleotydów genu białka płaszczka (CP) izolatów SMYEV pochodzących z różnych regionów geograficznych, wyróżniono trzy główne grupy (I, II, III) i pięć podgrup (trzy w obrębie grupy I i dwie w grupie III) [1].

Celem badań była charakterystyka genu CP 12 izolatów wirusa (Mal 4, GRNT 4, Grand 3, Grand 4, Grand 5, HP1541, HP1548, HP1501, clone 2, clone 15, clone 37 i 3233CL) wykrytych na trzech plantacjach truskawki w woj. łódzkim oraz jednej w woj. lubuskim.

Kwasy nukleinowe (w tym RNA wirusa) izolowano z liści truskawek metodą adsorpcji na żelu krzemionkowym, a następnie region zawierający gen białka płaszczka amplifikowano w reakcji RT-PCR ze starterami SYEupstcp1a i SYEPolyTb [2]. Do analizy sekwencji produktów RT-PCR wykorzystano oprogramowanie pakietu Lasergene 7.1 (DNASTAR), a analizę filogenetyczną przeprowadzono metodą przyłączania sąsiadów (MEGA 5.2).

Sekwencje genu białka płaszczka wykrytych izolatów porównywano z sekwencjami 45 szczepów SMYEV pochodzących z różnych krajów (Argentyna, Chile, USA, Kanada, Chiny, Korea Południowa, Japonia, Iran, Australia, Niemcy, Belgia). Podobieństwo sekwencji nukleotydów CP badanych izolatów wynosiło 86,7-100%. Największe zróżnicowanie stwierdzono pomiędzy izolatem 3233CL z woj. lubuskiego, a pozostałymi izolatami.

Analiza filogenetyczna wykazała bliskie pokrewieństwo 11 badanych izolatów wirusa, które lokowały się w podgrupie 1 (typ D74) grupy I, najliczniej reprezentowanej przez szczepy SMYEV z różnych krajów. Z kolei, izolat 3233CL został przyporządkowany do grupy II wraz ze szczepami „MY-18” z USA, „2CH” i „3CH” z Chile i „53” z Argentyny. Jednakże, w odróżnieniu od tych szczepów, izolat 3233CL tworzył osobną gałąź na drzewie filogenetycznym, wyodrębniając tym samym nową podgrupę w grupie II.

Sekwencje genu CP izolatów GRNT 4, clone 37, clone 2, Grand 4 i 3233CL zdeponowano w bazie GenBank (numery dostępu: MT080940-MT08944).

Literatura

1. Xiang Y, Nie X, Bernardy M, Liu J-J, Su L, Bhagwat B, Dickison V, Holmes J, Grose JM, Creelman AC (2020) Genetic diversity of strawberry mild yellow edge virus from eastern Canada. Arch Virol 165: 923-935.
2. Thompson J, Jelkmann W (2004). Variation of the coat protein of Strawberry mild yellow edge virus and the complete sequence of aphid transmissible strain D-74. Acta Hort 656: 57-62.

Molecular characterization of *Strawberry mild yellow edge virus* isolates detected for the first time in Poland

Mirosława Cieślińska¹, Dorota Starzec¹, Ewa Hennig²

¹The National Institute of Horticultural Research, Plant Protection Department, Pomologiczna 13a, 96-100 Skierniewice

²Main Inspectorate of Plant Health and Seed Inspection, Central Laboratory, Żwirki i Wigury 73, 87-100 Toruń

e-mail: miroslawaw.cieslinska@inhort.pl

Strawberry mild yellow edge virus (SMYEV), Potexvirus genus (Alphaflexiviridae family) occurs worldwide, often in a mixed infection with other viruses, causing stunting, leaf deformation and yellowing and fruit yield losses up to 30%. Recently, the threat from SMYEV has been increasing in Poland, which may be related to climate warming favorable for the development of main SMYEV vector, *Chaetosiphon fragaefolii*. Based on the differentiation of the nucleotide sequence of the coat protein (CP) gene of SMYEV strains from different geographic regions, three main groups (I, II, III) and five subgroups (three within group I and two in group III) were distinguished [1].

The aim of this study was to characterize the CP gene of 12 virus isolates (Mal 4, GRNT 4, Grand 3, Grand 4, Grand 5, HP1541, HP1548, HP1501, clone 2, clone 15, clone 37 and 3233CL) detected in three strawberry plantations in Łódź province and one in Lubuskie province.

Total nucleic acids (including viral RNA) were isolated from strawberry leaves by silica capture method, and the CP gene was amplified by RT-PCR with primers SYEupstcp1a and SYEPolyTb [2]. The Lasergene 7.1 package (DNASTAR) software was used for the sequence analysis, and the phylogenetic analysis was performed using the neighbor joining method (MEGA 5.2). The CP gene sequences of the detected isolates were compared with the sequences of 45 SMYEV strains from Argentina, Chile, USA, Canada, China, South Korea, Japan, Iran, Australia, Germany, and Belgium. The similarity of the CP nucleotide sequences of the tested isolates was 86.7-100%. The greatest differentiation was found between the 3233CL isolate from Lubuskie province and the other Polish isolates. Phylogenetic analysis showed a close relationship of 11 tested virus isolates, which were located in subgroup 1 (type D74) of group I, the most numerous group represented by SMYEV strains from different countries. In turn, the 3233CL isolate was assigned to group II along with the strains "MY-18" from the USA, "2CH" and "3CH" from Chile and "53" from Argentina. However, unlike these strains, the 3233CL isolate formed a new branch on the phylogenetic tree, separating a new subgroup in group II. The sequences of the CP gene of GRNT 4, clone 37, clone 2, Grand 4 and 3233CL isolates have been deposited in GenBank (accession numbers: MT080940-MT08944).

References

1. Xiang Y, Nie X, Bernardy M, Liu J-J, Su L, Bhagwat B, Dickison V, Holmes J, Grose JM, Creelman AC (2020) Genetic diversity of strawberry mild yellow edge virus from eastern Canada. Arch Virol 165: 923-935.
2. Thompson J, Jelkmann W (2004). Variation of the coat protein of Strawberry mild yellow edge virus and the complete sequence of aphid transmissible strain D-74. Acta Hort 656: 57-62.

Occurrence of cucumber mosaic virus and turnip mosaic virus in *Alliaria petiolata* in Ukraine

Angelina Kyrychenko¹, Halyna Snihur^{1,2}, Tetiana Shevchenko², Ivan Shcherbatenko¹

¹Institute of Microbiology and Virology. D.K. Zabolotnogo National Academy of Sciences of Ukraine, Academician Zabolotnogo street, 154, Kiev 03143, Ukraine

²Virology Department, ESC “Institute of Biology and Medicine”, Taras Shevchenko National University, 64/13 Volodymyrska Street, Kyiv, 01601, Ukraine

e-mail: a.kyrychenko@imv.org.ua

Alliaria petiolata (*Alliaria petiolata*, (M. Bieb.) Cavara & Grande, *Alliaria officinalis* Andr. Ex. Bieb.), or garlic mustard, is a biennial flowering plant in the mustard family (*Brassicaceae*). It is native to Europe, widespread in Ukraine and considered as an invasive weed of forests, farmland, field margins, and urban areas. In addition, the species is reported to be a host for several viruses – cucumber mosaic virus (CMV, *Bromoviridae*; *Cucumovirus*), turnip mosaic virus (TuMV, *Potyviridae*; *Potyvirus*), white clover mosaic virus (WCIMV, *Alphaflexiviridae*; *Potexvirus*), turnip vein-clearing virus (TVCV, *Virgaviridae*; *Tobamovirus*), turnip crinkle virus (TCV, *Tombusviridae*; *Betacarmovirus*), and turnip yellow mosaic virus (TYMV, *Tymoviridae*; *Tymovirus*), which may affect horticultural plants and a wide range of agricultural crops [1, 2]. In this study we explored the *A. petiolata* virome with aim to determine the role of these plants as potential virus reservoirs in Ukraine. Symptomatic *A. petiolata* showing vein banding, mosaic and leaf deformation were collected in five Kyiv regions and tested for CMV, TuMV, TCV, TYMV and watermelon mosaic virus II (WMV) infection by serological and molecular methods. According to the results obtained, 60% of symptomatic *Alliaria petiolata* were positive for CMV, 20% diseased plants were infected with TuMV, and 20% - co-infected with CMV + TuMV. The results are consistent with our previous studies on the detection of CMV in *A. petiolata* in Ukraine [3], but this is the first report of TuMV naturally infecting garlic mustard in our country. To determine the genetic relationships among viruses obtained in the study phylogenetic trees have been constructed on the base of partial coat protein (CP) nucleotide sequences. The phylogenetic analysis showed that TuMV from garlic mustard represent the highest identity (98.6%) to Iranian isolate IRNTRa9 (AP017803) from *Rapistrum rugosum* and Turkish isolate TUR49 (AP017872) from *Raphanus raphanistrum*. CMV isolate has the greatest similarity to the isolates from Germany (MW582807), Slovakia (MN792886), and Japan (AB006813) (99.8, 99.6, 99.6% pairwise identity, respectively). Partial CP gene sequences of CMV and TuMV isolates were deposited in the GenBank under Accession Nos. MZ540213 and OM799323, respectively. The results obtained in the study indicate the important role of infected garlic mustard as alternative host and natural reservoir of CMV and TuMV from which these economically important viruses can spread to other wild and cultivated plants.

This research was funded by the National Academy of Sciences of Ukraine (project No. 0120U000221) and by the Ministry of Education and Science of Ukraine (project No. 0121U109863).

References

1. Sastry KS, Mandal B, Hammond J, Scott SW, Briddon RW (2019). *Alliaria spp.* (Garlic mustard). In: Encyclopedia of Plant Viruses and Viroids. Springer, New Delhi.
2. Gaafar Y, Sieg-Müller A, Luddecke P, Herz K, Hartrick J, Maaß C, Schuhmann S, Richert-Pöggeler KR, Ziebell H (2019). First report of Turnip crinkle virus infecting garlic mustard (*Alliaria petiolata*) in Germany. New Disease Reports. 39, 9. <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2019.039.009>
3. Kyrychenko A, Snihur H, Shevchenko T (2022). First report of cucumber mosaic virus infecting *Alliaria petiolata* in Ukraine. J Plant Pathol. <https://doi.org/10.1007/s42161-022-01107-0>

Etiologia miękkiej zgnilizny alokazji amazońskiej (*Alocasia amazonica*)

Artur Mikiciński, Michał Warabieda, Jacek S. Nowak, Joanna Puławska

Instytut Ogrodnictwa - PIB, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

email: artur.mikicinski@inhort.pl

Na młodych roślinach alokazji, importowanych z Chin obserwowano objawy chorobowe w postaci beżowych, nekrotycznych, uwodnionych plam, zlokalizowanych u podstawy pędów liściowych. Rozprzestrzeniały się one w kierunku blaszek liściowych, powodując ich macerację a następnie zamieranie całych rośliny.

Z pogranicza zamartwych i zdrowych fragmentów pędów liściowych wykonano izolacje na pożywkę NAS (nutrient agar z 5% sacharozą) a następnie spośród wyrosłych kolonii wyosobniono 18 izolatów bakterii. W kolejnym etapie podjęto badanie ich zdolności do maceracji tkanek bulw ziemniaka oraz wywołania reakcji nadwrażliwości na tytoniu (HR). Dziesięć izolatów posiadało obie cechy, jeden powodowało tylko reakcję HR, a pozostałe siedem nie miało żadnej z tych zdolności.

Test patogeniczności na odciętych liściach alokazji przeprowadzono z izolatami AL1a i AL8, należącym do pierwszej grupy, uzyskując objawy chorobowe obserwowane wcześniej na chorych roślinach. Z porażonych tkanek reizolowano bakterie o tej samej morfologii, co użyte do inokulacji. Patogeniczne izolaty identyfikowano na podstawie analizy sekwencji 16S rRNA. Dziesięć izolatów, w tym AL1a i AL8, zaklasyfikowano do rodzaju *Pectobacterium* spp., a jeden (AL5b) jako *Pseudomonas* spp.

Etiology of alocasia (*Alocasia amazonica*) soft rot

Artur Mikiciński, Michał Warabieda, Jacek S. Nowak, Joanna Puławska

The National Institute of Horticulture, Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

email: artur.mikicinski@inhort.pl

Disease symptoms in the form of beige, necrotic, hydrated spots located at the base of the leaf shoots were observed on young alocasia plants imported from China. They spread towards the leaf blades, causing their maceration and then the death of the entire plant. From the margin of dead and healthy leaf shoot tissue, isolation of bacteria on NAS medium (nutrient agar with 5% sucrose) was performed and then 18 bacterial isolates were selected from the grown bacterial colonies.

In the next step, their ability to macerate potato tuber tissues and induce tobacco hypersensitivity (HR) was investigated. Ten isolates had both features, one produced only the HR response, and the remaining seven showed none of these abilities.

The pathogenicity test on cut-off leaves of alocasia was performed with AL1a and AL8 isolates belonging to the first group. The obtained disease symptoms recalled previously observed ones on diseased plants. Bacteria of the same morphology as used for inoculation were reisolated from the infected tissues. Pathogenic isolates were identified by 16S rRNA sequence analysis. Ten isolates, including AL1a and AL8, were classified to the genus *Pectobacterium* spp. and one (AL5b) to *Pseudomonas* spp.

Zdrowotność drzew w starych sadach w gminie Komańcza

Ewa Mirzwa-Mróż¹, Roman Bzdyk², Elżbieta Żygała³, Maja Niecikowska¹, Wojciech Wakuliński¹, Marcin Wit¹, Elżbieta Paduch-Cichal¹, Kinga Kimic⁴, Emilia Jabłońska¹

¹Zakład Fitopatologii, Katedra Ochrony Roślin, Instytut Nauk Ogrodniczych, SGGW w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

²Urząd Gminy, Komańcza 166, 38-543 Komańcza

³Arboretum i Zakład Fizjografii w Bolestraszycach, Bolestraszyce 130, 37-722 Wyszatyce

⁴Katedra Architektury Krajobrazu, Instytut Inżynierii Środowiska, SGGW w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

e-mail: ewa_mirzwa_mroz@sggw.edu.pl

W krajobrazie Polski coraz rzadziej spotyka się tradycyjne sady jabłoniowe, w których rosną, wysokopienne drzewa na silnie rosnących podkładkach. Stare odmiany jabłoni charakteryzują się naturalną odpornością na mróz, szkodniki i choroby, a drzewa o rozłożystych koronach stanowią naturalną ochronę gleb przed erozją wietrzną i wodną. Pozostałości po tradycyjnych sadach jabłoniowych obserwowano na terenie gminy Komańcza (obszary oznaczono jako Jawornik 1 i Jawornik 2), gdzie zachowało się około 100 drzew jabłoni stanowiących pozostałość po nieistniejących już sadach. Celem przeprowadzonych badań było przeprowadzenie inwentaryzacji rosnących w sadach gminy Komańcza drzew jabłoni i grusz i określenie ich zdrowotności. Inwentaryzację przyrodniczą wykonali pracownicy Arboretum i Zakładu Fizjografii w Bolestraszycach. Zinwentaryzowano 21 drzew jabłoni i 5 drzew grusz. Obserwowano wybrane cechy ich pokroju i owocowania oraz identyfikowano uszkodzenia mające wpływ na odbiór wrażeń wizualnych. Wszystkie 5 drzew grusz oznaczono jako spontaniczne siewki. Wśród 21 drzew jabłoni 3 drzewa oznaczono jako odmiany szlachetne (Krótkonóżka Królewska, Kronselska i Grochówka), 4 drzewa jako jabłoń dzika i 8 drzew jako spontaniczne siewki. Pozostałych 6 drzew wymaga dalszych obserwacji. Ocenę zdrowotności drzew jabłoni wykonali pracownicy Zakładu Fitopatologii SGGW w Warszawie. Analizę mykologiczną przeprowadzono przy użyciu mikroskopu stereoskopowego (SZ11 Olympus) i świetlnego (BX50 Olympus). Na wszystkich 5 drzewach gruszy odnotowano białą plamistość liści gruszy oraz brudną i kropkowaną plamistość gruszek. Natomiast parch gruszy i rdza gruszy wystąpiły jedynie u 2 drzew. Makroskopowe obserwacje 21 zinwentaryzowanych drzew jabłoni wykazały, że 20 drzew było porażonych przez grzyby. Najmniejsze porażenie zaobserwowano na drzewie nr 16, na którym zaobserwowano tylko pojedyncze plamy SBFS. Brudną i kropkowaną plamistość jabłek obserwowano na jabłkach u większości zinwentaryzowanych drzew. Na owocach drzew nr 10 i 17 wystąpiła głównie kropkowana plamistość. Objawy parcha jabłoni o różnym nasileniu na liściach i owocach zanotowano u 17 zinwentaryzowanych jabłoni, z wyjątkiem drzew nr 9, 12 i 13. U jabłoni z nr 6, 7, 20, i 14 obserwowano patogena z rodzaju *Colletotrichum*. SBFS, parcha jabłoni oraz patogena z rodzaju *Colletotrichum* zanotowano na drzewach z nr 6, 7, 20, i 14. Dokonano także izolacji grzybów powodujących brudną i kropkowaną plamistość jabłek na pożywkę PDA i stworzono kolekcję izolatów. Uzyskano łącznie 127 izolatów tych grzybów (98 z jabłek i 29 z gruszek). Wybrane drzewa będą źródłem zrazów służących do odtworzenia sadów starych odmian jabłoni w Komańczy.

Health of trees in old orchards in Komańcza commune

Ewa Mirzwa-Mróz¹, Roman Bzdyk², Elżbieta Żygała³, Maja Niecikowska¹, Wojciech Wakuliński¹, Marcin Wit¹, Elżbieta Paduch-Cichal¹, Kinga Kimic⁴, Emilia Jabłońska¹

¹Div. Plant Pathology, Department of Plant Protection, Institute of Horticultural Sciences, Warsaw University of Life Sciences – SGGW, Nowoursynowska Street 159, 02-776 Warsaw

² Commune Office, Komańcza 166, 38-543 Komańcza

³ Arboretum and Department of Physiography in Bolestraszyce, Bolestraszyce 130, 37-722 Wyszatyce

⁴ Department of Landscape Architecture, Institute of Environmental Engineering, Warsaw University of Life Sciences – SGGW, Nowoursynowska Street 159, 02-776 Warsaw

e-mail: ewa_mirzwa_mroz@sggw.edu.pl

Traditional apple orchards with high-growth trees on vigorously growing rootstocks are less and less found in the Polish landscape. Old apple varieties are naturally resistant to frost, pests and diseases, and trees with expanded crown provide natural soil protection against wind and water erosion. The remains of traditional apple orchards were observed in the Komańcza commune (the areas were marked as Jawornik 1 and Jawornik 2), where about 100 apple trees have been preserved, which were the remains of the now-defunct orchards. The aim of the study was to carry out an inventory of apple and pear trees growing in the orchards of the Komańcza commune and to determine their health status. The nature inventory was made by the employees of the Arboretum and the Department of Physiography in Bolestraszyce. 21 apple trees and 5 pear trees were inventoried. Selected features of their habit and fruiting were observed, and damages affected the perception of visual impressions were identified. All 5 pear trees were marked as spontaneous seedlings. Among 21 apple trees, 3 trees were marked as cultivars (Krótkonóżka Królewska, Kronselska and Grochówka), 4 trees as crab apple and 8 trees as spontaneous seedlings. The remaining 6 trees require further observation. The health of apple trees was assessed by employees of the Division of Plant Pathology of the Warsaw University of Life Sciences. Mycological analysis was performed using a stereoscopic (SZ11 Olympus) and light (BX50 Olympus) microscope. Leaf spot of pear and sooty blotch and flyspeck fungi (SBFS) were noted on all 5 pear trees. Whereas pear scab and pear rust occurred only in 2 trees. Macroscopic observations of 21 inventoried apple trees showed that 20 trees were infested with fungi. The lowest infestation was observed in tree no. 16, where only single SBFS spots were observed. Symptoms of sooty blotch and flyspeck were observed on apples in most of the inventoried trees. The fruits of trees No. 10 and 17 showed mainly fly speck. Symptoms of apple scab of varying intensity on leaves and fruit were noted in 17 inventoried apple trees, except trees No. 9, 12 and 13. In apple trees No. 6, 7, 20, and 14 pathogen of the genus *Colletotrichum* were observed. SBFS, apple scab and pathogen of the genus *Colletotrichum* were recorded on trees No. 6, 7, 20, and 14. The sooty blotch and flyspeck fungi were also isolated for PDA and a collection of isolates was obtained. A total of 127 isolates of these fungi were obtained (98 from apples and 29 from pears). The selected trees will be the source of scions used to recreate the orchards of old apple varieties in Komańcza.

Infekcyjne kopie TBRV zasocjowane z białkiem GFP narzędziem do analiz oddziaływań patogen-gospodarz

Aleksandra Zarzyńska-Nowak, Julia Minicka, Przemysław Wieczorek, Beata Hasiów-Jaroszewska

Instytut Ochrony Roślin-Państwowy Instytut Badawczy, ul. Wł. Węgorka 20, 60-318 Poznań

e-mail: a.zarzyńska@iorpib.poznan.pl

Zrozumienie mechanizmów, które wpływają na zdolność porażania różnych gospodarzy przez ten sam gatunek wirusa i czynników biorących udział w tym procesie zarówno po stronie rośliny, jak i gospodarza stanowi jedno z podstawowych wyzwań w ochronie roślin. Patogenem porażającym szeroki zakres roślin gospodarczo-ważnych, ozdobnych, chwastów, drzew i krzewów jest wirus czarnej pierścieniowej plamistości pomidora (*Tomato black ring virus*, TBRV). Pomimo licznych badań dotyczących jego biologii i ewolucji, niewiele wiadomo o mechanizmach patogenezы indukowanych w porażonych roślinach.

Rzów technik molekularnych umożliwia analizę specyficznych oddziaływań pomiędzy poszczególnymi komponentami wirusów i ich gospodarzy. W związku z tym, w celu przeprowadzenia szczegółowych analiz uzyskano infekcyjną kopie cDNA TBRV [1], która umożliwia wprowadzanie modyfikacji do genomu wirusa. Dzięki temu, za pomocą metody In-Fusion (Takara) na 3' końcu RNA2 wprowadzono otwartą ramkę odczytu kodującą białko zielonej fluorescencji (ang. *green fluorescence protein*, GFP) poprzedzoną sekwencją kodującą białko 2A. Następnie, otrzymane konstrukty TBRV-2A-GFP wprowadzono do bakterii *Agrobacterium tumefaciens*, agroinokulowano rośliny ogórka, monitorowano pojawianie się objawów na roślinach oraz obserwowano ekspresję genu *gfp* za pomocą lampy UV i mikroskopów fluorescencyjnych. Infekcyjność konstruktu TBRV-2A-GFP oceniano poprzez mechaniczną inokulację roślin testowych, a obecność insercji genu oraz powstawanie białka GFP sprawdzano odpowiednio za pomocą metody RT-PCR i Western blot.

Po 21 dniach od agroinokulacji na apikalnych liściach ogórka obserwowano chlorotyczną mozaikę typową dla porażenia TBRV, zaś rośliny testowe chorowały po 7 dniach od inokulacji. Ekspresję genu *gfp* w postaci fluorescencji obserwowano za pomocą lampy UV oraz mikroskopu fluorescencyjnego i konfokalnego. Obecność wirusa w roślinie potwierdzono za pomocą metody RT-PCR, natomiast powstawanie białka GFP w porażonych tkankach za pomocą metody Western blot.

Uzyskany konstrukt TBRV-GFP stanowi zoptymalizowane narzędzie do przeprowadzenia szczegółowych badań dotyczących oddziaływań pomiędzy wirusem a rośliną żywicielską na każdym etapie patogenezы.

Pracę wykonano w ramach projektu 2016/23/N/NZ9/02160 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

Literatura

1. Zarzyńska-Nowak A, Ferriol I, Falk BW, Borodynko-Filas N, Hasiów-Jaroszewska B (2017) Construction of *Agrobacterium tumefaciens*-mediated tomato black ring virus infectious cDNA clones. *Virus Res* 230: 59–62.

Infectious clones of tomato black ring virus fused with green fluorescence protein (GFP) as a tool for virus-plant interactions analysis

Aleksandra Zarzyńska-Nowak, Julia Minicka, Przemysław Wieczorek, Beata Hasiów-Jaroszewska

Institute of Plant Protection-National Research Institute, ul. Wł. Węgorka 20, 60-318 Poznań

e-mail: a.zarzyńska@iorpib.poznan.pl

Understanding the mechanisms involved in viral infection and their ability to infect different hosts is one of the most important challenges in plant protection. *Tomato black ring virus* (TBRV) is a serious plant pathogen infecting a wide range of economically important, ornamental, weeds and woody plants worldwide. Despite of many studies regarding TBRV biology and evolution, little is known about mechanisms underlying the pathogenesis process. Rapid development of biotechnology and molecular biology tools allows to perform advanced studies concerning specific interactions between virus and host components. Therefore, in order to perform detailed analysis, the infectious TBRV cDNA clones fused with green fluorescence protein (GFP) were constructed [1]. The open reading frame encoding GFP was inserted after self-cutting 2A protein on N-terminal of recombined RNA2. Next, *Agrobacterium tumefaciens* were transformed with obtained TBRV-2A-GFP construct and agroinfiltrated into leaves of cucumber plants. The symptoms on the agroinfiltrated plants, constructs infectivity, fluorescence and the presence of *gfp* insertion and GFP protein were monitored within one month.

21 days after agroinoculation typical for TBRV infection symptoms were observed on apical leaves while symptoms of re-inoculated test plants were noticed after 7 dpi. *Gfp* gene expression was observed under UV light and both fluorescence and fluorescence confocal microscopes. The presence of the insert was confirmed by RT-PCR while GFP by Western-blot.

Obtained TBRV-GFP will allow to extend the knowledge of different aspects of TBRV biology such as molecular mechanism of pathogen-plant interaction at each stage of pathogenesis.

This research was funded by the Polish National Science Centre (project No.2016/23/N/NZ9/02160).

References

1. Zarzyńska-Nowak A, Ferriol I, Falk BW, Borodynko-Filas N, Hasiów-Jaroszewska B (2017) Construction of *Agrobacterium tumefaciens*-mediated tomato black ring virus infectious cDNA clones. *Virus Res* 230: 59-62.

Generowanie wolnych rodników przez hemibiotroficznego grzyba *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* w zróżnicowanych warunkach troficznych

Zbigniew Karolewski^{1*}, Agnieszka Woźniak², Magda Formela-Luboińska², Tamara Chadzinikolau², Sławomir Samardakiewicz³, Marcin Kujawa³, Katarzyna Sadowska⁴, Waldemar Bednarski⁵, Mateusz Labudda⁶, Philippe Jeandet⁷, Iwona Morkunas^{2*}

¹ Katedra Fitopatologii i Nasiennictwa, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Dąbrowskiego 159, 60-594 Poznań, Polska

² Katedra Fizjologii Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wołyńska 35, 60-637 Poznań, Polska;

³ Laboratorium Mikroskopii Elektronowej i Konfokalnej, Wydział Biologii UAM, Uniwersytetu Poznańskiego 6, 61-614 Poznań, Polska

⁴ Klinika Chorób Roślin i Bank Patogenów, Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Władysława Węgorka 20; 60-318 Poznań, Polska

⁵ Instytut Fizyki Molekularnej Polskiej Akademii Nauk, Smoluchowskiego 17, 60-179, Poznań, Polska;

⁶ Katedra Biochemii i Mikrobiologii, Instytut Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, Polska

⁷ Research Unit “Induced Resistance and Plant Bioprotection”, UPRES EA 4707, Department of Biology and Biochemistry, Faculty of Sciences, University of Reims, P.O. Box 1039, CEDEX 02, 51687 Reims, France

e-mail: zbigniew.karolewski@up.poznan.pl, iwona.morkunas@up.poznan.pl

Podniesione generowanie wolnych rodników odgrywa znaczącą rolę w odpowiedzi obronnej roślin, szczególnie we wczesnej interakcji roślina-patogen, natomiast w późniejszym etapie rozwoju choroby, gdy nie jest skoordynowane z efektywnym systemem ich zmiatania może pogłębiać destrukcyjne zmiany w komórkach roślinnych i ułatwiać rozprzestrzenianie się patogenu. Nasze wieloletnie badania udokumentowały ważną rolę wolnych rodników, zarówno reaktywnych form tlenu (ROS) jak i rodników semichinonowych-pochodzenia organicznego w odpowiedzi obronnej roślin z rodziny bobowatych (Fabaceae Lindl.) na patogenicznego grzyba *Fusarium oxysporum* [1-2]. Ponadto istnieją także doniesienia o znaczeniu generowania ROS w kontekście obrony patogenów grzybowych. Dotychczasowe badania nad patogenami koncentrowały się na odpowiedzi na stres oksydacyjny (OSR), przewyciężeniu wybuchu oksydacyjnego indukowanego w roślinie-gospodarzu lub unikaniu OSR przez efekторы patogenów grzybowych wprowadzane do cytoplazy komórek roślinnych [3]. Z kolei jest udokumentowane także, że patogeny grzybowe, zwłaszcza nekrotrofy, mogą aktywnie przyczyniać się do podnoszenia poziomu ROS w roślinie, ponieważ grzyby posiadają oksydazy NADPH (Noxs) produkujące reaktywne formy tlenu. Celem niniejszych badań było określenie generowania reaktywnych form tlenu przez patogenicznego grzyba *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*, którego kultury były prowadzone na pożywce z dodatkiem węglowodanów rozpuszczalnych lub bez dodatku cukru (kontrola) oraz hodowane w kontrolowanych warunkach w ciemności w temperaturze 23°C. Generowanie RFT było obserwowane stosując mikroskopię konfokalną.

Literatura

1. Morkunas I., Bednarski W. 2008. *Fusarium oxysporum* induced oxidative stress and antioxidative defenses of yellow lupine embryo axes with different level of sugars, J. Plant Physiol., 165(3): 262-277.
2. Morkunas I., Bednarski W., Kopyra M. 2008. Defense strategies of pea embryo axes with different levels of sucrose to *Fusarium oxysporum* and *Ascochyta pisi*. Physiol. Mol. Plant Pathol. 72:167–178.
3. Heller J., Tudzynski P. 2011. Reactive Oxygen Species in Phytopathogenic Fungi: Signaling, Development, and Disease. Annu. Rev. Phytopathol. 2011. 49:369–90.

Generation of free radicals by the hemibiotrophic fungus *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* in various trophic conditions

Zbigniew Karolewski^{1*}, Agnieszka Woźniak², Magda Formela-Luboińska², Tamara Chadzinikolau², Sławomir Samardakiewicz³, Marcin Kujawa³, Katarzyna Sadowska⁴, Waldemar Bednarski⁵, Mateusz Labudda⁶, Philippe Jeandet⁷, Iwona Morkunas^{2*}

¹ Department of Phytopathology, Seed Science and Technology, Poznań University of Life Sciences, Dąbrowskiego 159, 60-594 Poznań, Poland

² Department of Plant Physiology, Poznań University of Life Sciences, Wołyńska 35, 60-637 Poznań, Poland;

³ Laboratory of Electron and Confocal Microscopy, Faculty of Biology, Adam Mickiewicz University, Uniwersytetu Poznańskiego 6, 61-614 Poznań, Poland

⁴ Plant Diseases Clinic and Bank of Pathogens, The Institute of Plant Protection – National Research Institute, Władysława Węgorka 20; 60-318 Poznań, Poland

⁵ Institute of Molecular Physics, Polish Academy of Sciences, Smoluchowskiego 17, 60-179, Poznań, Poland;

⁶ Department of Biochemistry and Microbiology, Institute of Biology, Warsaw University of Life Sciences-SGGW, Nowoursynowska 159, 02-776 Warsaw, Poland

⁷ Research Unit “Induced Resistance and Plant Bioprotection”, UPRES EA 4707, Department of Biology and Biochemistry, Faculty of Sciences, University of Reims, P.O. Box 1039, CEDEX 02, 51687 Reims, France

e-mail: zbigniew.karolewski@up.poznan.pl, iwona.morkunas@up.poznan.pl

The increased generation of free radicals plays a significant role in the defense response of plants, especially in the early plant-pathogen interaction, while at a later stage in the development of the disease, when it is not coordinated with an effective system of their neutralization, it may aggravate destructive changes in plant cells and facilitate the spread of the pathogen. Our many years of research have documented the important role of free radicals, both reactive oxygen species (ROS) and organic semiquinone radicals, in the defense response of *Fabaceae* Lindl. plants to the infection with pathogenic fungus *Fusarium oxysporum* [1-2]. In addition, there are also reports of the importance of ROS generation in the context of the defense of fungal pathogens. The research on pathogens to date has focused on the response to oxidative stress (OSR), overcoming oxidative burst induced in the host plant or avoiding OSR by fungal pathogen effectors secreted into the plant cells [3]. In turn, it is also documented that fungal pathogens, especially necrotrophs, can actively contribute to increasing ROS levels in plants because fungi possess NADPH oxidases (Noxs) that produce ROS. The aim of this study was to determine the generation of ROS by the pathogenic fungus *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*, cultures of which were carried out on a medium with or without added sugar (control) and grown under controlled conditions in the dark at 23° C. ROS generation was observed using confocal microscopy.

References

1. Morkunas I., Bednarski W. 2008. *Fusarium oxysporum* induced oxidative stress and antioxidative defenses of yellow lupine embryo axes with different level of sugars, J. Plant Physiol., 165(3): 262-277.
2. Morkunas I., Bednarski W., Kopyra M. 2008. Defense strategies of pea embryo axes with different levels of sucrose to *Fusarium oxysporum* and *Ascochyta pisi*. Physiol. Mol. Plant Pathol. 72:167–178.
3. Heller J., Tudzynski P. 2011. Reactive Oxygen Species in Phytopathogenic Fungi: Signaling, Development, and Disease. Annu. Rev. Phytopathol. 2011. 49:369–90.

Fizjologiczne zmiany zachodzące w liściach pomidora w wyniku infekcji *Pseudomonas syringae* i w obecności *Alcaligenes faecalis*

Agnieszka Hanaka¹, Małgorzata Majewska², Ewa Ozimek², Emilia Reszczyńska¹, Sylwia Zielińska³, Weronika Kozłowska³, Klaudia Tużnik¹

¹ Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Katedra Fizjologii Roślin i Biofizyki, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

² Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

³ Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Katedra Biologii i Biotechnologii Farmaceutycznej, Zakład Biotechnologii Farmaceutycznej, ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław

e-mail: agnieszka.hanaka@mail.umcs.pl

Stres związany z infekcją mikroorganizmami patogenicznymi jest kluczowym czynnikiem ograniczającym wzrost i plonowanie roślin uprawnych. *Pseudomonas syringae* jest bakterią patogeniczną, zaraża głównie rośliny jednoroczne, np. pomidory, ogórki, czy fasole. Aplikowanie mikroorganizmów, które miałyby potencjał ograniczania skutków infekcji, np. bakterii stymulujących wzrost roślin (PGPB), byłyby zatem korzystne również w powodów ekonomicznych.

Celem eksperymentu było ustalenie, czy aplikacja szczepu bakteryjnego *Alcaligenes faecalis*, posiadającego cechy PGPB, będzie redukować stres u pomidora (*Solanum lycopersicum* L.) wywołany infekcją *P. syringae*. Badania prowadzono na roślinach inokulowanych *A. faecalis* zainfekowanych *P. syringae* w różnym czasie. Oznaczono szereg parametrów fizjologicznych, m.in.: zawartość barwników fotosyntetycznych, antocyjanów, proliny i aldehydu dimalonowego.

W większości uzyskanych parametrów, inokulacja wyłącznie szczepem *P. syringae*, skutkowałą podobną tendencją, jaką obserwowano u roślin inokulowanych wyłącznie szczepem *A. faecalis*, niemniej widoczne były różnice ilościowe w zawartości chlorofilu *a*, antocyjanów i aldehydu dimalonowego. W układach zawierających oba szczepy bakterii, *A. faecalis* oraz *P. syringae*, wykazano, że czas podania *P. syringae* istotnie wpływał na wartość zmierzonych w roślinie parametrów. Szczególnie widoczne były różnice dotyczące zawartości chlorofilu, karotenoidów, antocyjanów, proliny i aldehydu dimalonowego pomiędzy jednoczesną inokulacją *A. faecalis* i *P. syringae*, a podaniem *P. syringae* w odstępie czasowym po aplikacji *A. faecalis*. Wykazane zmiany w zawartości zbadanych metabolitów świadczą o modyfikacji reakcji rośliny na infekcję w obecności *A. faecalis*.

Physiological changes in tomato leaves as a result of infection with *Pseudomonas syringae* and in the presence of *Alcaligenes faecalis*

Agnieszka Hanaka¹, Małgorzata Majewska², Ewa Ozimek², Emilia Reszczyńska¹, Sylwia Zielińska³, Weronika Kozłowska³, Klaudia Tużnik¹

¹ Maria Curie-Skłodowska University, Department of Plant Physiology and Biophysics, Akademicka 19, 20-033 Lublin

² Maria Curie-Skłodowska University, Department of Industrial and Environmental Microbiology, Akademicka 19, 20-033 Lublin

³ Wrocław Medical University, Department of Pharmaceutical Biology and Biotechnology, Division of Pharmaceutical Biotechnology, Borowska 211, 50-556 Wrocław

e-mail: agnieszka.hanaka@mail.umcs.pl

Stress related to the infection with pathogenic microorganisms is a key factor limiting the growth and yield of crops. *Pseudomonas syringae* is a pathogenic bacterium and infects mainly annual plants, e.g., tomatoes, cucumbers and beans. The application of microorganisms which have the potential to reduce the impact of infection, e.g., plant growth-promoting bacteria (PGPB), would be also beneficial for economic reasons.

The aim of the experiment was to determine whether the application of the bacterial strain *Alcaligenes faecalis*, having PGPB features, would reduce stress in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) caused by *P. syringae* infection. The research was carried out on plants inoculated with *A. faecalis* and infected with *P. syringae* at different times. Several physiological parameters were determined, including the content of photosynthetic pigments, anthocyanins, proline and malonyldialdehyde.

In most of the obtained parameters, inoculation only with *P. syringae*, resulted in a similar tendency that was observed in plants inoculated only with *A. faecalis*, but quantitative differences were observed in the content of chlorophyll *a*, anthocyanins and malonyldialdehyde. In the treatments containing both strains of bacteria, *A. faecalis* and *P. syringae*, it was shown that the time of *P. syringae* administration had a significant effect on the values of the parameters measured in the plant. The differences in the content of chlorophylls, carotenoids, anthocyanins, proline and malonyldialdehyde were particularly evident between the simultaneous inoculation of *A. faecalis* and *P. syringae*, and the administration of *P. syringae* in a time interval after the application of *A. faecalis*. The changes found in the content of the tested metabolites indicate modification of the plant response to infection in the presence of *A. faecalis*.

Aktywność enzymów (PAL, TAL) szlaku fenylopropanoidowego w tkankach pszenicy po inokulacji nasion EPS uzyskanym z hodowli fitopatogenicznego szczepu *Fusarium graminearum* (DEMFG36)

Artur Nowak¹, Renata Tyśkiewicz², Jolanta Jaroszuk-Ściseł¹

¹ Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

² Sieć Badawcza Łukasiewicz–Instytut Nowych Syntez Chemicznych, Laboratorium Analityczne, Al. Tysiąclecia Państwa Polskiego 13a, 24-110 Puławy

e-mail: artur.nowak@mail.umcs.pl

Fusarium to rodzaj grzybów nitkowatych, szeroko rozpowszechniony na całym świecie we wszystkich typach gleb. Wiele gatunków tego rodzaju to patogeny powodujące choroby różnych roślin o ważnym znaczeniu rolniczym, ogrodniczym lub leśnym. Jedną z najgroźniejszych chorób wywoływaną przez te grzyby jest fuzarioza (FHB – ang. *Fusarium Head Blight* lub *Fusariosis*) [1]. Gatunki należące do rodzaju *Fusarium* produkują wiele metabolitów wtórnych, takich jak mykotoksyny, fitohormony (kwas indolilo-3-octowy – IAA i kwas giberelinowy – GA), enzymy degradujące ścianę komórkową (CWDEs – ang. *Cell Wall Degrading Enzymes*), oraz polimery zewnątrzkomórkowe (EPS) [2,3]. EPS mogą być rozpoznawane przez receptory roślinne i oddziaływać na aktywność enzymów szlaku fenylopropanoidowego (liazę fenyloalaniową – PAL i liazę tyrozynową – TAL), które biorą udział w syntezie związków fenolowych, uczestniczących w lignifikacji ściany komórkowej [4].

W badaniach wykorzystano fitopatogeniczny szczep *Fusarium graminearum* (DEMFG36). Najwyższe stężenie EPS (na poziomie 0,8 g/L) uzyskano 3-4 dnia wzrostu szczepu na podłożu Czapek-Dox z 3% sacharozą i 0,75% peptonem, w temperaturze 20°C. Egzopolimery precypitowano etanolem (1:1), a następnie liofilizowano. Uzyskanymi EPS w stężeniu 0,05% inokulowano nasiona pszenicy przez 5 i 10 dni, a następnie oznaczono aktywność enzymów markerowych (PAL i TAL) szlaku fenylopropanoidowego w łodygach (Ł) i korzeniach (K) rośliny. Obserwowano 1,5-2-krotny przyrost świeżej masy łodygi i korzeni 10-ego dnia wzrostu siewek. Uzyskane EPS miały istotnie większy wpływ na aktywność TAL w tkankach pszenicy. W 5 dniu inkubacji, aktywność TAL w łodygach wzrastała 2-krotnie (30 U), a 10-ego dnia 1,5-krotnie (20 U). Z kolei w korzeniach rośliny zbożowej obserwowano nawet 4-5-krotny wzrost aktywności TAL (40-55 U). W przypadku PAL odnotowano ponad 4-krotny wzrost aktywności tego enzymu (~80 U) jedynie w korzeniach pszenicy 5-ego dnia inkubacji.

Pracę wykonano w ramach subwencji statutowej wydziału Biologii i Biotechnologii UMCS

Literatura

1. Moreno-Amores J, Michel S, Löschenberger F, Buerstmayr H. (2020) Dissecting the contribution of environmental influences, plant phenology, and disease resistance to improving genomic predictions for *Fusarium* Head Blight resistance in wheat. *Agronomy* 10, 2008
2. Jaroszuk-Ściseł J, Nowak A, Komaniecka I, Choma A, Jarosz-Wilkołazka A, Osińska-Jaroszuk M, Tyśkiewicz R, Wiater A, Rogalski J. (2020) Differences in production, composition, and antioxidant activities of exopolymeric substances (EPS) obtained from cultures of endophytic *Fusarium culmorum* strains with different effects on cereals. *Molecules* 25, 616.
3. Prathyusha A, Mohana SG, Bramhachari PV. (2018) Chemical characterization and antioxidant properties of exopolysaccharides from mangrove filamentous fungi *Fusarium equiseti* ANP2. *Biotechnol. Rep.* 19, 00277.
4. Dong NQ, Lin HX. (2021) Contribution of phenylpropanoid metabolism to plant development and plant-environment interactions. *J. Integr. Plant Biol.* 63, 180–209.

The activity of the phenylpropanoid pathway enzymes (PAL, TAL) in wheat tissues after seed inoculation with EPS obtained from the culture of the phytopathogenic *Fusarium graminearum* strain (DEMFG36)

Artur Nowak¹, Renata Tyśkiewicz², Jolanta Jaroszuk-Ścisień¹

¹ Maria Curie-Skłodowska University, Department of Industrial and Environmental Microbiology, Akademicka 19, 20-033 Lublin

² Łukasiewicz Research Network–New Chemical Syntheses Institute, Analytical Laboratory, Al. Tysiąclecia Państwa Polskiego 13a, 24-110 Puławy

e-mail: artur.nowak@mail.umcs.pl

Fusarium is a genus of filamentous fungi, widely spread throughout the world in all soil types. Many species of this genus are pathogens causing diseases of various plants of important agricultural, horticultural or forestry importance. One of the most dangerous diseases caused by these fungi is fusariosis (FHB – *Fusarium Head Blight* or *Fusariosis*) [1]. Species belonging to the genus *Fusarium* produce many secondary metabolites, including mycotoxins, phytohormones (indolyl-3-acetic acid – IAA and gibberellic acid – GA), cell wall degrading enzymes (CWDEs), and extracellular polymers (EPS) [2,3]. EPS can be recognized by plant receptors and affect the activity of phenylpropanoid pathway enzymes (phenylalanine lyase – PAL and tyrosine lyase – TAL), which are involved in the synthesis of phenolic compounds engaged in the lignification of the cell wall [4].

The phytopathogenic strain of *Fusarium graminearum* (DEMFG36) was used in the study. The highest concentration of EPS (at the level of 0.8 g/L) was obtained on the 3rd day of the strain growth on the Czapek-Dox medium with 3% sucrose and 0.75% peptone, at the temperature of 20° C. The exopolymers were precipitated with ethanol (1: 1) and then lyophilized. The obtained EPS at a concentration of 0.05% was inoculated with wheat seeds for 5 and 10 days, and then the activity of marker enzymes of the phenylpropanoid pathway (PAL and TAL) in the stems (Ł) and roots (K) of the plant was determined. 1.5-2 times increase in fresh weight of stems and roots was observed on the 10th day of seedling growth. The obtained EPS had a significantly greater effect on the activity of TAL in wheat tissues. On the 5th day of incubation, the TAL activity in the stems increased 2-fold (30 U), and on the 10th day, 1.5-fold (20 U). On the other hand, in the roots of the cereal plant, even a 4-5-fold increase in TAL activity (40-55 U) was observed. In the case of PAL, an over 4-fold increase in the activity of this enzyme (~ 80 U) was noted only in wheat roots on the 5th day of incubation.

The work was carried out under the statutory subsidy of the Faculty of Biology and Biotechnology of UMCS

References

1. Moreno-Amores J, Michel S, Löschenberger F, Buerstmayr H. (2020) Dissecting the contribution of environmental influences, plant phenology, and disease resistance to improving genomic predictions for *Fusarium Head Blight* resistance in wheat. *Agronomy* 10, 2008
2. Jaroszuk-Ścisień J, Nowak A, Komanińska I, Choma A, Jarosz-Wilkotańska A, Osińska-Jaroszuk M, Tyśkiewicz R, Wiater A, Rogalski J. (2020) Differences in production, composition, and antioxidant activities of exopolymeric substances (EPS) obtained from cultures of endophytic *Fusarium culmorum* strains with different effects on cereals. *Molecules* 25, 616.
3. Prathyusha A, Mohana SG, Bramhachari PV. (2018) Chemical characterization and antioxidant properties of exopolysaccharides from mangrove filamentous fungi *Fusarium equiseti* ANP2. *Biotechnol. Rep.* 19, 00277.
4. Dong NQ, Lin HX. (2021) Contribution of phenylpropanoid metabolism to plant development and plant-environment interactions. *J. Integr. Plant Biol.* 63, 180–209.

Identyfikacja odporności pszenicy jarej na rdze (*Puccinia* spp.), septoriozę plew (*Stagnospora nodorum*) oraz mączniaka prawdziwego (*Blumeria graminis*) w fazie rośliny dorosłej

Jerzy H. Czembor¹, Elżbieta Czembor¹, Łukasz Stępień²

¹ Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Radzików, 05-870 Błonie

² Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

e-mail: j.h.czembor@ihar.edu.pl

Rdze, mączniak prawdziwy i septoriozy to choroby, które mają duży wpływ na plon pszenicy zwyczajnej. Odporność na choroby w fazie rośliny dorosłej (adult plant resistance - APR) jest uwarunkowana wieloma czynnikami: genetycznymi gospodarza oraz warunkami środowiskowymi, wpływającymi na wzrost i rozwój roślin oraz na rozwój patogena.

Kolekcja 489 dawnych i współczesnych odmian pszenicy zwyczajnej, zgromadzonych głównie na terenie Europy, została w latach 2018-2019 scharakteryzowana fenotypowo pod względem odporności na rdzę liściową (*Puccinia triticina*), rdzę żółtą (*Puccinia striiformis*), septoriozę plew (*Stagnospora nodorum*) oraz mączniaka prawdziwego (*Blumeria graminis*) w warunkach polowych.

Wyniki z genotypowania DArTseq zostały poddane analizie bioinformatycznej przy użyciu pakietu dartR v1.1.11 w języku programowania R. Uwarunkowania genetyczne opisanych fenotypowo cech odporności prowadzono techniką GWAS (Genome-Wide Association Study) wykorzystując program GAPIT v2018.08.18 R z pakietem BLINK (Linkage Disequilibrium Iteratively Nested Keyway). Umożliwiło to określenie markerów SNP typu SilicoDArT powiązanych z cechami oraz przedstawienie ich lokalizacji w genomie.

Wyniki analizy GWAS wskazały 41 statystycznie istotnych ($-\log_{10}(p) \geq 7,3$) asocjacji marker-cecha (MTA) odnoszących się do odporności na opisane choroby. Dla ocen w 2019 wskazano statystycznie istotną asocjację 3 MTA z odpornością na rdzę liściową (na chromosomie 7D) oraz 5 MTA z odpornością na rdzę żółtą (po 1 na chromosomach 2B, 3B, 6B oraz 2 na 5B).

Wyniki analizy GWAS danych fenotypowych odporności na choroby w 2018 roku oraz danych molekularnych wskazały statystycznie istotną asocjację 17 MTA z odpornością na rdzę żółtą (po jednym na chromosomach 1A, 1D, 3D, 4B, 4D, 6A, 6B, 7A, 7B; po 2 SNP na chromosomach 3A i 7D oraz 4 na chromosomie 3B). Dla odporności na septoriozę plew określono 15 MTA powiązanych z tą cechą (po 1 na chromosomach 2B, 4B, 6A, 7D; po 2 markery na chromosomach 1D, 2D, 3B, 5D, 6D, 7A). Dla odporności na mączniaka prawdziwego określono jeden MTA na chromosomie 6B.

Podziękowania: dla R. Sucheckiego (CSIRO Agriculture and Food, Urrbrae, SA 5064, Australia) z wsparcie merytoryczne oraz N. S. Watson-Haigh za wykonanie analiz bioinformatycznych ((South Australian Genomics Centre, SAHMRI, North Terrace, Adelaide, SA 5000, Australia)

Pracę wykonano w ramach projektu N N500 010040 finansowanego przez NCBIr w ramach programu GOSPOSTRATEG I, Numer Umowy: Gospostrateg 1/394826/10/NCBR/2018 z dnia 22.11.2018r. Tytuł: Stworzenie bioinformatycznego systemu zarządzania narodowymi zasobami genowymi roślin użytkowych oraz rozwój kapitału społecznego i gospodarczego Polski poprzez ochronę i wykorzystanie tych zasobów w procesie świadczenia usług doradztwa rolniczego – AGROBANK

Identification of rusts (*Puccinia* spp.), septoria nodorum (*Stagnospora nodorum*) and powdery mildew (*Blumeria graminis*) adult plant resistance in spring wheat

Jerzy H. Czembor¹, Elzbieta Czembor¹, Łukasz Stępień²

¹ Plant Breeding and Acclimatization Institute – National Research Institute, Radzików, 05-870 Błonie

² Institute of Plant Genetics, Polish Academy of Sciences, Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

e-mail: j.h.czembor@ihar.edu.pl

Rusts and powdery mildew are diseases which have a major effect on yield loss in wheat. Adult Plant Resistance (APR) is a post-seedling resistance mechanism and its expression is influenced by many factors, including host susceptibility, weather conditions as well as the timing and severity of disease outbreaks. There are two mechanisms associated with APR: non-hypersensitiveness and minor APR gene effects.

In this study 489 European wheat accessions were evaluated phenotypically across 2 years (2018-2019) under field conditions scoring leaf rust (*Puccinia triticina*), yellow rust (*Puccinia striiformis*), septoria tritici blotch (*Septoria tritici*), septoria nodorum blotch (*Stagnospora nodorum*) and powdery mildew (*Blumeria graminis*). The same accessions were genotyped using DArTseq (Diversity Arrays Technology, DArT, Pty Ltd, Australia. DArT data was handled using the dartR v1.1.11 package in the R programming language. SNPs and genotypes were removed if SNP markers contained > 5% missing data and genotypes contained > 10% missing data, respectively. GWAS analysis was conducted using the GAPIT v2018.08.18 R package.

GWAS for leaf rust resistance in 2019 identified 3 marker-trait associations (MTAs) on chromosome 7D and 5 MTAs for yellow rust resistance (on chromosomes 2B, 3B, 6B and 2 MTAs on 5B). GWAS for yellow rust resistance phenotyped in 2018 identified 17 MTAs (1 MTA on chromosomes 1A, 1D, 3D, 4B, 4D, 6A, 6B, 7A, 7B; 2 MTAs on chromosomes 3A, 7D and 4 MTAs on chromosome 3B, respectively). For septoria nodorum GWAS identified 15 MTAs (1 MTA on chromosomes 2B, 4B, 6A, 7D; 2 MTAs on chromosomes 1D, 2D, 3B, 5D, 6D, 7A, respectively). For powdery mildew 1 MTA was identified on chromosome 6B.

Acknowledge: for R. Suchecki (CSIRO Agriculture and Food, Urrbrae, SA 5064, Australia) and for N. S. Watson-Haigh (South Australian Genomics Centre, SAHMRI, North Terrace, Adelaide, SA 5000, Australia) for bioinformatic analysis.

This research was funded by the Polish National Center for Research and Development “Development of bioinformatic management system of national crop plant genetic resources and development of social and economic resources of Poland by the protection and use of these means in the process of agricultural advisory services” - AGROBANK No. 1/394826/10/NCBR/2018). <https://agrobank.cdr.gov.pl/index.php>

Identyfikacja odporności jęczmienia jarego na rdze (*Puccinia* spp.) oraz mączniaka prawdziwego (*Blumeria graminis*) w fazie kłoszenia i mleczno-woskowej

Elżbieta Czembor, Jerzy H. Czembor

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Radzików, 05-870 Błonie

e-mail: e.czembor@ihar.edu.pl

Rdze i mączniak prawdziwy to choroby, które mają duży wpływ na spadek plonów jęczmienia. Na ekspresję uwarunkowań odporności roślin w fazie dorosłej (adult plant resistance: APR) wpływa wiele czynników, w tym podatność genetyczna, warunki pogodowe, a także rozwój populacji patogena.

Do badań włączono 431 odmian dawnych i współczesnych zgromadzonych głównie na terenie Europy. W warunkach polowych oceniono APR na mączniaka prawdziwego (PM), rdzę brunatną jęczmienia (BBR) i rdzę źdźbłową (SR) w latach 2018 i 2019. Analizy molekularne wykonano technologią DArTseq. Analizę GWAS przeprowadzono dla PM, BBR i SR w fazie strzelania w źdźbło (HA) i fazie mleczno-woskowej nasion (MW) w 2019 r. oraz dla maksymalnych wyników ocen we wszystkich powtórzeniach 2018-2019. Nasilenie choroby było wystarczające do zróżnicowania kolekcji i określenia markerów powiązanych z opisanymi fenotypowo cechami.

Wyniki z genotypowania DArTseq zostały poddane analizie bioinformatycznej przy użyciu pakietu dartR v1.1.11 w języku programowania R. Uwarunkowania genetyczne opisanymi fenotypowo cech odporności prowadzono techniką GWAS (Genome-Wide Association Study) wykorzystując program GAPIT v2018.08.18 R z pakietem BLINK (Linkage Disequilibrium Iteratively Nested Keyway). Umożliwiło to określenie markerów SNP typu SilicoDArT powiązanych z cechami oraz przedstawienie ich lokalizacji w genomie.

Wyniki analizy GWAS wskazały 73 statystycznie istotnych ($-\log_{10}(p) \geq 7,3$) asocjacji marker-cecha (MTA) odnoszących się do odporności na opisane choroby. Dla PM określono 10 MTA: 5 w fazie HA (dwa na 1H oraz po jednym na 3H, 4H, i 5H) oraz 5 dla ocen w latach 2019-2018 jednocześnie (dwa na 2H oraz po jednym na 3H, 4H i 6H). Jeden MTA 3432490-28-T/C był powiązany z odpornością na mączniaka w obu stadiach rozwoju.

Wyniki GWAS wskazały jeden marker powiązany z BBR w fazie strzelania w źdźbło oraz 6 markerów dla ocen w latach 2018 – 2019 jednocześnie: trzy na 3H oraz po jednym na 5H, 2H i 7H. Dla SR określono łącznie 48 markerów, z których 12 na 7H. Dla SR w fazie HA określono 14 MTA (dwa na 1H, dwa na 2H, trzy na 3H, dwa na 5H, trzy na 6H i dwa na 7H). Dla SR w fazie MW określono 26 MTA: sześć na 1H, cztery na 2H, jeden na 4H, trzy na 5H, trzy na 6H oraz dziewięć na 7H.

Podziękowania: dla R. Sucheckiego (CSIRO Agriculture and Food, Urrbrae, SA 5064, Australia) z wsparcie merytoryczne oraz N. S. Watson-Haigh za wykonanie analiz bioinformatycznych (South Australian Genomics Centre, SAHMRI, North Terrace, Adelaide, SA 5000, Australia)

Pracę wykonano w ramach projektu N N500 010040 finansowanego przez NCBiR w ramach programu GOSPOSTRATEG I, Numer Umowy: Gospostateg 1/394826/10/NCBR/2018 z dnia 22.11.2018r. Tytuł: Stworzenie bioinformatycznego systemu zarządzania narodowymi zasobami genowymi roślin użytkowych oraz rozwój kapitału społecznego i gospodarczego Polski poprzez ochronę i wykorzystanie tych zasobów w procesie świadczenia usług doradztwa rolniczego – AGROBANK

Identification of rusts (*Puccinia* spp.) and powdery mildew (*Blumeria graminis*) spring barley resistance at heading and milky-waxy stages

Elzbieta Czembor, Jerzy H. Czembor

Plant Breeding and Acclimatization Institute – National Research Institute, Radzikow, 05-870 Blonie

e-mail: e.czembor@ihar.edu.pl

Rusts and powdery mildew are diseases which have a major effect on yield loss in barley. Adult Plant Resistance (APR) is a post-seedling resistance mechanism and its expression is influenced by many factors including host susceptibility, weather conditions as well as the timing and severity of disease outbreaks. There are two mechanisms associated with APR: non-hypersensitive and minor gene APR.

In this study 431 European barley accessions were evaluated phenotypically across 2 years (2018 – 2019) under field conditions scoring APR to powdery mildew (PM), barley brown rust (BBR) and stem rust (SR) and genotypically using DArTseq. GWAS was conducted for PM, BBR and SR scored at heading (HA) and seed milky-waxy (MW) stages in 2019 and for maximum scores across all replicates 2018-2019. Disease severity was sufficient to differentiate the collection and to determine SNPs.

Barley accessions were genotyped by Diversity Arrays Technology (DArT) Pty Ltd, Australia, using DArTseq. DArT data were handled using the dartR v1.1.11 package in the R programming language. SNPs and genotypes were removed if SNP markers contained > 5% missing data and genotypes contained > 10% missing data, respectively. GWAS analysis was conducted using the GAPIT v2018.08.18 R package.

Overall, the GWAS analysis identified 73 marker-trait associations (MTAs) with these traits. For PM resistance 5 MTAs were identified at the HA stage (2 on 1H, one on 3H, 4H and 5H, respectively) and 5 MTAs when considering the maximal disease score across both growth stages and both years (two on 2H and one on 3H, 4H, 6H, respectively). One marker (3432490-28-T/C) was shared between these two traits and it is located on chromosome 4H. For BBR at MW stage scored at HA stage at 2019 one marker on chromosome 6H was indicated. For BBR scored across 2018-2019 6 MTAs were indicated: three on chromosome 3H, one on 5H, 2H and on 7H.

For SR at HA stage GWAS identified 14 MTAs: two on 1H, two on 2H, three on 3H, two on 5H, three in 6H and two on 7H. For SR at MW stage 26 MTAs were indicated: six on 1H, four on 2H, one on 4H, three on 5H, three on 6H and nine on 7H.

From the 48 markers identified as being associated with SR resistance, 12 were on chromosome 7H, 1 being in the telomeric region of the short arm and 7 in the telomeric region of the long arm. *Rpg1* was previously mapped to 7HS.

Acknowledge: for R. Suchecki (CSIRO Agriculture and Food, Urrbrae, SA 5064, Australia) and for N. S. Watson-Haigh (South Australian Genomics Centre, SAHMRI, North Terrace, Adelaide, SA 5000, Australia) for bioinformatic analysis.

This research was funded by the Polish National Center for Research and Development "Development of bioinformatic management system of national crop plant genetic resources and development of social and economic resources of Poland by the protection and use of these means in the process of agricultural advisory services" - AGROBANK No. 1/394826/10/NCBR/2018). <https://agrobank.cdr.gov.pl/index.php>

Reakcja genotypów pszenicy (*Triticum aestivum* L.) na patogeny z rodzaju *Rhizoctonia*

Karol Lisiecki, Grzegorz Lemańczyk

Politechnika Bydgoska, Katedra Biologii i Ochrony Roślin, Al. prof. S. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz

e-mail: Karol.Lisiecki@pbs.edu.pl

Produkcja roślinna stanowi podstawę egzystencji człowieka. Pozyskiwanie wysoko wartościowego pokarmu jest dzisiaj dużym problemem, gdyż uprawom roślin zagraża wiele niebezpieczeństw, zarówno o charakterze biotycznym jak i abiotycznym. Jednym z mechanizmów mogących przeciwdziałać temu jest postęp biologiczny. Uzyskanie oraz dobór odpowiedniego materiału biologicznego w kontekście upraw roślin pozwala na zmniejszenie strat ilościowych i jakościowych w plonie. Aby uzyskać wartościowy materiał genetyczny do dalszych procesów hodowlanych niezbędne jest odpowiednie sprofilowanie genotypów pod kątem wykazywanych mechanizmów obronnych. Celem niniejszej pracy było wyodrębnienie profilów biologicznych genotypów pszenicy w kontekście reakcji oraz ewentualnej obrony przeciwko patogenom z rodzaju *Rhizoctonia*.

Zbadano rozkład cech odporności w populacji genotypów pszenicy w badaniach polowych jak i laboratoryjnych. w testach polowych zaobserwowano, iż w warunkach prowokacyjnych 45% badanej populacji roślin wykazywało cechy odporności względem obu testowanych gatunków *Rhizoctonia* (*Rhizoctonia cerealis* AG-DI oraz *Rhizoctonia solani* AG-5), natomiast w warunkach laboratoryjnych 36% genotypów wykazywało podobne cechy odporności. Kolejnym etapem było scharakteryzowanie podłoża interakcji roślina- patogen. w tym celu przebadano różne genotypy (gatunki) pszenicy, tj. pszenicę zwyczajną (*Triticum aestivum* ssp. *aestivum*), pszenicę orkisz (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*), pszenicę perską (*Triticum persicum*), pszenicę okrągłozierną (*Triticum sphaerococcum*), pszenicę twardą (*Triticum turgidum* ssp. *durum*) oraz ich wrażliwości na wybrane patogeny z rodzaju *Rhizoctonia*. w badaniach tych wykorzystano cztery izolaty *Rhizoctonia* należące do różnych grup anastomozowych, tj. *R. cerealis* AG-DI, *R. solani* AG-5, *R. solani* AG-1IC oraz *Rhizoctonia* AG-B0.

Przeprowadzone badania pozwoliły na częściowe scharakteryzowanie relacji pomiędzy roślinami i mikroorganizmami. Zaobserwowano, że w zależności od gatunku patogena rośliny uruchamiały różne mechanizmy obronne w zróżnicowanym stopniu

Największą aktywność chitynolityczną obserwowano w roślinach pszenicy okrągłoziernej i pszenicy twardej. Oba wymienione gatunki charakteryzowały się wysoką aktywnością konstytutywną oraz w ekspozycji na wszystkie badane patogeny. Co istotne obserwowano również wysoką aktywność chitynaz w obecności szczepu niepatogenicznego *Rhizoctonia* AG-B0. Kwestia oddziaływania pobudzającego, czyli tzw. primingu pozostaje obiektem dalszych badań. Z kolei największą aktywnością glukanaz w tkankach roślin charakteryzowały się pszenica perska oraz pszenica twarda. Ekspozycja roślin na patogeniczne i niepatogeniczne mikroorganizmy powodowała wzrost obserwowanej aktywności w odniesieniu do roślin kontrolnych. Najmniejszą obserwowaną aktywnością charakteryzowały się rośliny pszenicy orkisz.

Wheat (*Triticum aestivum* L.) genotype reaction to pathogens of the *Rhizoctonia* genus

Karol Lisiecki, Grzegorz Lemańczyk

Bydgoszcz University of Science and Technology, Department of Plant Biology and Protection, Al. prof. S. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz

e-mail: Karol.Lisiecki@pbs.edu.pl

Plant production is the basis of human existence. Obtaining highly valuable food is a big problem today, because plant crops are threatened by many dangers, both biotic and abiotic. One of the mechanisms that can counteract this is biological progress. Obtaining and selecting the appropriate biological material in the context of plant cultivation allows for the reduction of quantitative and qualitative losses in the yield. In order to obtain valuable genetic material for further breeding processes, it is necessary to properly profile genotypes in terms of the demonstrated defense mechanisms. The aim of this study was to distinguish the biological profiles of wheat genotypes in the context of the reaction and possible defense against *Rhizoctonia* pathogens.

The distribution of resistance traits in the population of wheat genotypes was examined in field and laboratory tests. In field tests it was observed that under provocative conditions 45% of the studied population of plants showed resistance features to both tested *Rhizoctonia* species (*Rhizoctonia cerealis* AG-DI and *Rhizoctonia solani* AG-5), while under laboratory conditions, 36% of the genotypes showed similar resistance features. The next step was to characterize the basis of the plant-pathogen interaction. For this purpose, various wheat genotypes (species) were tested, i.e. common wheat (*Triticum aestivum* ssp. *aestivum*), spelled wheat (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*), Persian wheat (*Triticum persicum*), round wheat (*Triticum sphaerococcum*), durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. *Durum*) and their sensitivity to selected pathogens of the genus *Rhizoctonia*. In these studies, four *Rhizoctonia* isolates belonging to different anastomotic groups were used, i.e. *R. cerealis* AG-DI, *R. solani* AG-5, *R. solani* AG-1IC and *Rhizoctonia* AG-B0.

The conducted research allowed for a partial characterization of the relationship between plants and microorganisms. It was observed that, depending on the species of the pathogen, the plants activated different defense mechanisms to a varying degree.

The highest chitinolytic activity was observed in round grain wheat and durum wheat plants. Both of these species were characterized by high constitutive activity and exposure to all pathogens tested. Importantly, high chitinase activity was also observed in the presence of the non-pathogenic *Rhizoctonia* AG-B0 strain. The issue of stimulating influence, i.e. priming remains the subject of further research. In turn, Persian wheat and durum wheat were characterized by the highest activity of glucanases in plant tissues. Plant exposure to pathogenic and non-pathogenic microorganisms increased the observed activity in relation to control plants. Spelled wheat plants were characterized by the lowest observed activity.

Badanie materiałów wyjściowych rzepaku (*Brassica napus* L.) odpornych na wirusa żółtaczki rzepy (TuYV)

Elżbieta Starzycka-Korbas¹, Michał Starzycki¹, Katarzyna Krzyżańska¹, Natasza Borodynko-Filas², Jacek Żebrowski³

¹Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – PIB, Oddział w Poznaniu, ul Strzeszyńska 36, 60-479 Poznań

²Instytut Ochrony Roślin -PIB, ul. Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznań

³Uniwersytet Rzeszowski, Instytut Biologii i Biotechnologii, ul.Pigonia 1, 35-310 Rzeszów

e-mail: e.starzycka-korbas@ihar.edu.pl

W ostatnich latach na plantacjach rzepaku (*Brassica napus* L.) obserwuje się coraz większą aktywność wirusa żółtaczki rzepy (TuYV). Obecność wirusa obserwowana jest w krajach: Europy, Azji, Ameryki Północnej i Australii. Choroba rozprzestrzenia się w wyniku żerowania wektorów owadzych, głównie: mszycy brzoskwińczo-ziemniaczanej (*Myzus persicae*), mszycy ziemniaczanej (*Macrosiphum euphorbiae*) i mszycy kapuścianej (*Brevicoryne brassicae*). W wyniku porażenia rzepaku przez TuYV, straty w plonie nasion mogą sięgać nawet do 70%. Dotychczas opisane źródła odporności, pochodzą z linii resyntetyzowanej rzepaku R54 oraz jarej koreańskiej odmiany Yudal. W 2021 roku badanie odporności nowych materiałów wyjściowych rzepaku pod kontem odporności na TuYV podjęto w IHAR-PIB, Oddział w Poznaniu.

Do badań odpornościowych i krzyżowań przemiennych wykorzystano genotypy rzepaku z cytoplazmą kapust (jarmużu, kapusty pastewnej - choryńskiej, brukselki, *B. taurica*) oraz odmiany o deklarowanej odporności na TuYV. Wybrane nowe linie oraz linie rodzicielskie zostały wysiane w warunkach kontrolowanych (termoperiod 10°C – noc, 15°C – dzień i fotoperiod 12 godzin). Po uzyskaniu odpowiedniej fazy rozwojowej roślin przeprowadzono inokulację wektorami owadzi (mszyce) z potwierdzonym wynikiem obecności wirusów TuYV (test molekularny RT-PCR). Po miesiącu od inokulacji wykonano obserwacje charakterystycznych objawów występowania wirusa żółtaczki rzepy oraz sprawdzono preferencje mszyc do żerowania na danym genotypie. Ocenę porażenia wykonano na 20 roślinach danego genotypu w trójstopniowej skali (0 – brak porażenia, 1 – delikatna mozaika na liściach, 2 – charakterystyczne fioletowe przebarwienia na liściach) i obliczono indeks porażenia (IP). Następnie fragmenty liści przekazano do testów Elisa. Ponadto próby porażonych liści przez TuYV zliofilizowano i przekazano do badań metabolomicznych. Analiza spektrometryczna w podczerwieni metodą FTIR wykazała stosunkowo duże zmiany między młodymi, a starszymi liśćmi w regionie spektrum odpowiadającym polisacharydom. Przelekcjonowane genotypy rzepaku odporne i tolerancyjne na TuYV o wysokich walorach użytkowych, zostaną wykorzystane do dalszej hodowli *B. napus* w kolejnych latach.

Pracę wykonano w ramach Dotacji Celowej nr 3.6 finansowanej przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi

Research new breeding lines of oilseed rape (*Brassica napus* L.) resistant to Turnip Yellow Virus (TuYV)

Elżbieta Starzycka-Korbas¹, Michał Starzycki¹, Katarzyna Krzyżańska¹, Natasza Borodynk-Filas², Jacek Żebrowski³

¹Plant Breeding and Acclimatization Institute - National Research Institute, Division in Poznan, Strzeszyńska 36, 60-479 Poznan

²Institute of Plant Protection – National Research Institute, Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznan

³Universiti of Rzeszów, Institute of Biology and Biotechnology, Pigionia 1, 35-310 Rzeszów

e-mail: e.starzycka-korbas@ihar.edu.pl

In recent years, an increasing activity of Turnip Yellow Virus (TuYV) has been observed in oilseed rape (*Brassica napus* L.) plantations. The presence of the virus is observed in the following countries: Europe, Asia, North America and Australia. The disease spreads through the feeding of insect vectors, mainly: peach aphid (*Myzus persicae*), potato aphid (*Macrosiphum euphorbiae*) and cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*). As a result of infection of rapeseed plants by TuYV, losses in the seed yield can reach even 70%. The described sources of resistance come from the line of resynthesized oilseed rape R54 and spring Korean variety Yudal. In 2021 research on new rapeseed lines on TuYV resistance was undertaken at IHAR-PIB, Poznań Branch.

Genotypes of rapeseed with cytoplasm of cabbage (*B. oleracea*: kale, fodder cabbage - Chorynska, Brussels sprouts, *B. taurica*) and varieties with declared resistance to TuYV were used for resistance tests and cross-breeding. The selected new lines and parent lines were seeded under controlled conditions (thermoperiod 10°C - night, 15°C - day and photoperiod 12 hours). After obtaining the appropriate phase of plant development, inoculation with insect vectors (aphids) was carried out with the confirmed result of the presence of TuYV viruses (molecular RT-PCR test). One month after inoculation, the characteristic symptoms of Turnip Yellow Virus were observed and the preferences of aphids for feeding on a given genotype were checked. Infestation was assessed on 20 plants of a given genotype in a three-point scale (0 - no infection, 1 - delicate mosaic on the leaves, 2 - characteristic purple discoloration on the leaves) and the pathogenicity index (IP) was calculated. The leaf fragments were then sent for Elisa testing. Moreover, samples of infected leaves by TuYV were lyophilized and submitted for metabolomics studies. The infrared spectrometric analysis by FTIR showed relatively large changes between young and old leaves in the region of the spectrum corresponding to the polysaccharides. Selected rapeseed genotypes resistant and tolerant to TuYV with high utility values will be used for further breeding of *B. napus* in the following years.

This research was funded by the Ministry of Agriculture and Rural Development (Target Grant No. 3.6)

Wpływ glikoalkaloidów z liści różnych *Solanum* spp. na enzymy pektynolityczne u bakterii *Dickeya solani* i *Pectobacterium brasiliense*

Anna Grupa-Urbańska¹, Dorota Sołtys-Kalina¹, Renata Lebecka¹

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Platanowa 19, 05-831 Młochów

e-mail: a.grupa@ihar.edu.pl

Bakterie pektynolityczne rodzaju *Pectobacterium* i *Dickeya* wpisano na listę dziesięciu najważniejszych, z punktu widzenia ekonomicznego i badawczego, bakterii patogenicznych dla wielu gatunków roślin [1]. Powodują dwie choroby ziemniaka: czarną nóżkę i mokrą zgniliznę bulw. Nie prowadzi się chemicznej ochrony przed chorobami bakteryjnymi w praktyce.

Agresywność tych bakterii polega na ich zdolności do wytwarzania i sekrecji zewnątrzkomórkowych enzymów rozkładających ścianę komórkową roślin. Zdolność bakterii pektynolitycznych do infekcji roślin jest wypadkową wpływu warunków atmosferycznych (wilgotności i temperatury), wirulencji bakterii oraz innych czynników związanych z rośliną np. zawartości glikoalkaloidów (GLA), których synteza wzrasta podczas zranienia. GLA produkowane w roślinach należących do rodzaju *Solanum* stanowią pierwszą linię obrony przed owadami, nicieniami, bakteriami, wirusami i grzybami [2]. Ilość oraz rodzaj GLA w roślinie może w sposób efektywny modyfikować wirulencję bakterii.

Celem pracy było poznanie jak glikoalkaloidy (GLA) z części nadziemnej różnych form ziemniaka wpływają na wybrane czynniki wirulencji bakterii *D. solani* oraz *P. brasiliense* sp. nov., w tym zdolność wytwarzania przez bakterie enzymów pektynolitycznych. Do badań wybrano dwa izolaty charakteryzujące się wysoką agresywnością w stosunku do bulw ziemniaka.

GLA izolowano z 9 form ziemniaka: 3 dzikich gatunków (*S. maglia*, *S. chacoense*, *S. garsiae*), 2 mieszańców międzygatunkowych (DG 00-683, DG 88-89) oraz 3 odmian ziemniaka uprawnego (Tajfun, Irys, Owacja, Mieszko). Wpływ GLA na aktywność pektynolityczną bakterii badano na pożywce CVP (Crystal Violet Pectate Medium, Cupples i Kelman 1974) [3] z dodatkiem lub bez dodatku GLA. Powstawanie charakterystycznych zagłębień wokół kolonii bakteryjnych po 48 godz. inkubacji w temperaturze 31°C było wskaźnikiem aktywności pektynolitycznej izolatów.

GLA wyizolowane z *S. maglia*, *S. chacoense* i odmiany Tajfun, α -chaconina i α -solanina, najsilniej hamowały aktywność pektynolityczną bakterii.

Prace finansowane przez MRiRW w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w latach 2021-2027 Zadanie: 28.

Literatura

1. Mansfield J, Genin S, Magori S, Citovsky V, Sriariyanum M, Ronald M, i in. (2012) Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.* 13: 614–629 doi: 10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x
2. Friedman M (2006) Potato glycoalkaloids and metabolites: roles in the plants and in the diet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 8655-8681.
3. Cupples D, Kelman A (1974) Evaluation of selective media for isolation of soft-rot bacteria from soil and plant tissue. *Phytopathology* 64: 468–475.

Effect of glycoalkaloids from leaves of various *Solanum* spp. on pectinolytic enzymes in *Dickeya solani* and *Pectobacterium brasiliense*

Anna Grupa-Urbańska¹, Dorota Sołtys-Kalina¹, Renata Lebecka¹

Plant Breeding and Acclimatization Institute - National Research Institute, ul. Platanowa 19, 05-831 Młochów

e-mail: a.grupa@ihar.edu.pl

Pectinolytic bacteria of the genus *Pectobacterium* and *Dickeya* were included in the list of the ten most important, from the economic and research point of view, pathogenic bacteria for many plant species [1]. They cause two potato diseases: blackleg and soft rot on potato tubers. Chemical protection against bacterial diseases is not carried out in practice. The aggressiveness of these bacteria lies in their ability to produce and secrete extracellular enzymes that break down the plant cell wall. The ability of pectinolytic bacteria to infect plants is the result of the influence of weather conditions (humidity and temperature), bacterial virulence and other plant-related factors, e.g. glycoalkaloids (GLA), the synthesis of which increases during wounding. GLA produced in plants belonging to the genus *Solanum* is the first line of defense against insects, nematodes, bacteria, viruses and fungi [2]. The amount and type of GLA in a plant can effectively modify bacterial virulence.

The aim of the study was to find out how glycoalkaloids (GLA) from the aerial part of various potato forms affect selected virulence factors of *D. solani* and *P. brasiliense* sp. nov. Bacteria, including the ability of bacteria to produce pectinolytic enzymes. Two isolates characterized by high aggressiveness towards potato tubers were selected for the study. GLA was isolated from 9 forms of potato: 3 wild species (*S. maglia*, *S. chacoense*, *S. garsiae*), 2 interspecific hybrids (DG 00-683, DG 88-89) and 3 cultivars of potato (Tajfun, Irys, Owacja, Mieszko). The effect of GLA on the pectinolytic activity of bacteria was tested on CVP medium (Crystal Violet Pectate Medium, Cupples and Kelman 1974) with or without the addition of GLA. Formation of characteristic depressions around bacterial colonies after 48 hours incubation at 31 °C was an indicator of the pectinolytic activity of the isolates.

GLA isolated from *S. maglia*, *S. chacoense* and the Tajfun cultivars, α -chaconin and α -solanine, inhibited the pectinolytic activity of bacteria the most.

Works financed by the Ministry of Agriculture and Rural Development as part of basic research for biological progress in plant production in the years 2021-2027 Task: 28.

References:

1. Mansfield J, Genin S, Magori S, Citovsky V, Sriariyanum M, Ronald M, et al. (2012) Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. Mol. Plant Pathol. 13: 614–629 doi: 10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x
2. Friedman M (2006) Potato glycoalkaloids and metabolites: roles in the plants and in the diet. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54: 8655-8681.
3. Cupples D, Kelman A (1974) Evaluation of selective media for isolation of soft-rot bacteria from soil and plant tissue. Phytopathology 64: 468–475.

Problemy i nowe rozwiązania dotyczące diagnostyki kwarantannowej bakterii *Clavibacter sepedonicus* - sprawcy bakteriozy pierścieniowej ziemniaka

Włodzimierz Przewodowski

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Oddział w Boninie, Zakład Nasiennictwa i Ochrony Ziemniaka w Boninie, ul. Bonin 3, 76-009 Bonin

e-mail: w.przewodowski@ihar.edu.pl

Clavibacter sepedonicus (Speckermann and Kotthoff 1914) Li et al. 2018 (Cs) – sprawca bakteriozy pierścieniowej ziemniaka, to jeden z najbardziej uciążliwych patogenów tej rośliny. Bakterie te stwarzają utrudnienia zarówno w zwalczaniu, jak i diagnostyce. Ze względu na szereg unikalnych cech, patogen ten stwarza ryzyko niekontrolowanego rozprzestrzeniania się choroby na nowe obszary [1-6, 8, 10-12].

Jednym z utrudnień w zapobieganiu rozprzestrzeniania się tej bakterii są problemy związane z diagnostyką. Szczególnie uciążliwe są próby środowiskowe, które charakteryzują się dużą objętością i niską koncentracją komórek bakteryjnych. Zawierają one również szereg różnego rodzaju zanieczyszczeń o charakterze mikrobiologicznym, chemicznym, biochemicznym, biologicznym i fizykochemicznym, których obecność może doprowadzić do zafałszowania wyniku testu. Zalecana metodyka OEPP/EPPO nie umożliwia całkowitej eliminacji tych zanieczyszczeń podczas izolacji bakterii Cs z prób środowiskowych. To z kolei utrudnia diagnostykę i często doprowadza do uzyskania błędnego wyniku [2-4, 6, 8, 10-12].

Niniejsza prezentacja przedstawia nowe podejście w diagnostyce sprawcy bakteriozy pierścieniowej ziemniaka na bazie proponowanych rozwiązań komercyjnych oraz naukowych w kontekście istniejących obecnie zaleceń OEPP/EPPO [1, 3, 5-9, 11].

Literatura

1. Dyrektywa Komisji WE Nr 2006/56 z 12.06.2006 Dz.U. Unii Europejskiej L 182/27 4.7.2006 PL.
2. Easton GD (1979) The biology and epidemiology of potato ring rot. Am. Potato J. 56: 459 – 460.
3. Gryń G, Pietraszko M, Przewodowski W, Franke K, Nowakowski M, Nowakowski M (2021) Reaction of selected potato varieties to *C. sepedonicus* infestation under changing weather conditions. Eur J Plant Pathol 160: 113–125.
4. Lebecka R, Zimnoch – Guzowska E (2005) Choroby bakteryjne ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.) - strategie ochrony. Biul. IHAR 237/238: 161 – 168.
5. OEPP/EPPO (2006) *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. OEPP/EPPO Bulletin 36: 99–109.
6. Pietraszko M, Gryń G, Przewodowski W (2018) An Effect of weather and soil conditions and their interaction on infection of leaves and tubers of potato with bacteria *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. Am. J. Potato Res. (2018) 95: 278–285.
7. Przewodowski W (2013) a-d. 4 Patenty UP RP nr PL 213855, PL 213856, PL 213857 i PL 213858.
8. Przewodowski W, Przewodowska A (2017) Development of a Sensitive and Specific Polyclonal Antibody for Serological Detection of *C. michiganensis* subsp. *sepedonicus*. PloS ONE 12(1): e0169785: 1-21.
9. Przewodowski W, Przewodowska A, Jankowska M (2021) Patent UP RP nr PL 427988.
10. Przewodowski W, Treder K (2008) Trudności związane z diagnozą i eliminacją bakteriozy pierścieniowej ziemniaka. Ziemn. Pol. 2008(4): 1-3.
11. Przewodowski W, Salamońska K, Szarek D, Michałowska D, Stochła W, Przewodowska A, Gryń G, Pietraszko M, Franke K (2019) Badania nad opracowaniem metod selektywnej izolacji oraz czulej identyfikacji bakterii Cms w trudnych diagnostycznie próbach środowiskowych. Biul IHAR (286): 265-269
12. Van der Wolf JM, Elphinstone JG, Stead DE, Metzler M, Müller P, Hukkanen A, Karjalainen R (2005) Epidemiology of *C. m. sepedonicus* in relation to control of bacterial ring rot (No. 95). PRI Bioscience.

Problems and new solutions in diagnostics of *Clavibacter sepedonicus* - quarantine bacteria responsible for ring rot of potato

Włodzimierz Przewodowski

Plant Breeding and Acclimatization Institute – National Research Institute, Bonin Research Center,
Department of Potato Protection and Seed Science at Bonin, Bonin 3, 76-009 Bonin

e-mail: w.przewodowski@ihar.edu.pl

Clavibacter sepedonicus (Spieckermann and Kotthoff 1914) Li et al. 2018 (Cs) – the causal agent responsible for ring rot of potato, is one of the most troublesome pathogens of the plant. These bacteria create difficulties in both control and diagnostics. Due to many unique features, this pathogen poses a risk of uncontrolled spread of the disease to new areas [1-6, 8, 10-12].

One of the main problems in preventing the spread of the bacteria is the proper diagnostics. Particularly burdensome are the environmental samples, which are usually characterized by a large volume and a low concentration of bacterial cells. These samples also contain several different types of microbiological, chemical, biochemical, biological, and physicochemical contaminants, the presence of which may lead to a false test result. The recommended OEPP / EPPO methodology is not able to sufficiently eliminate these contaminants during the identification of the Cs bacteria from environmental samples. This makes diagnostics difficult and often leads to incorrect results [2-4, 6, 8, 10-12].

This presentation shows a new approach to the diagnosis of the causative agent of the ring rot of potato, based on the proposed commercial and scientific solutions in the context of the current OEPP / EPPO recommendations [1, 3, 5-9, 11].

References

1. EC Commission Directive No 2006/56 z 12.06.2006 Journal of Laws EU L 182/27 4.7.2006 PL.
2. Easton GD (1979) The biology and epidemiology of potato ring rot. Am. Potato J. 56: 459 – 460.
3. Gryń G, Pietraszko M, Przewodowski W, Franke K, Nowakowski M, Nowakowski M (2021) Reaction of selected potato varieties to *C. sepedonicus* infestation under changing weather conditions. Eur J Plant Pathol 160: 113–125.
4. Lebecka R, Zimnoch – Guzowska E (2005) Potato bacterial diseases (*Solanum tuberosum* L.) - conservation strategies. Biul. IHAR 237/238: 161 – 168.
5. OEPP/EPPO (2006) *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. OEPP/EPPO Bulletin 36: 99–109.
6. Pietraszko M, Gryń G, Przewodowski W (2018) An Effect of weather and soil conditions and their interaction on infection of leaves and tubers of potato with bacteria *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. Am. J. Potato Res. (2018) 95: 278–285.
7. Przewodowski W (2013) a-d. 4 Polish patents No PL 213855, PL 213856, PL 213857 & PL 213858.
8. Przewodowski W, Przewodowska A (2017) Development of a Sensitive and Specific Polyclonal Antibody for Serological Detection of *C. michiganensis* subsp. *sepedonicus*. PloS ONE 12(1): e0169785: 1-21.
9. Przewodowski W, Przewodowska A, Jankowska M (2021) Polish patent No PL 427988.
10. Przewodowski W, Treder K (2008) Difficulties in the diagnosis and elimination of ring rot of potato. Ziemn. Pol. 2008(4): 1-3.
11. Przewodowski W, Salamońska K, Szarek D, Michałowska D, Stochła W, Przewodowska A, Gryń G, Pietraszko M, Franke K (2019) R&D of methods for selective isolation and sensitive identification of Cms bacteria in diagnostically difficult environmental samples. Biul IHAR (286): 265-269.
12. Van der Wolf JM, Elphinstone JG, Stead DE, Metzler M, Müller P, Hukkanen A, Karjalainen R (2005) Epidemiology of *C. m. sepedonicus* in relation to control of bacterial ring rot (No. 95). PRI Bioscience.

Metody izolacji fitopatogenów występujących w ekologicznej uprawie truskawki

Agata Gryta, Jacek Panek, Magdalena Frąć

Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

e-mail: a.gryta@ipan.lublin.pl, m.frac@ipan.lublin.pl

Badania obejmowały izolację szczepów fitopatogenów truskawek pochodzących z plantacji ekologicznych. Fitopatogeny izolowano z próbek gleby, korzeni, fragmentów roślin (liści, kłaczy) jak również z owoców. Szczepy fitopatogenów izolowano różnymi metodami obejmującymi i) izolację bezpośrednią na różnych podłożach hodowlanych poprzez wysiew powierzchniowy z seryjnych rozcieńczeń; ii) wykładanie fragmentów liści z widocznymi zmianami na podłoża hodowlane (podłoże glukozowo-ziemniaczane (PDA), podłoże z sokiem wielowarzywnym (V8), podłoże z ekstraktem słodowym (MEA), oraz pożywkę z różem bengalskim i antybiotykami; iii) wykorzystanie pułapek jabłkowych, poprzez inokulację zielonych jabłek odmiany Granny Smith fragmentami porażonych tkanek roślinnych; iv) wykładanie na podłoża hodowlane przygotowanych fragmentów korzeni i owoców. Fragmenty korzeni przygotowano według procedury obejmującej płukanie roślin w wodzie wodociągowej, dezynfekcję powierzchniową, a następnie korzenie i kłacza obkorowywano, wewnątrz krojono na drobne fragmenty (kilka mm) i wykładano na przygotowane podłoża na płytkach Petriego (podłoże glukozowo-ziemniaczane - PDA, podłoże z soku wielowarzywnego - V8 sok, gotowe podłoże wielowarzywne - V8, podłoże kukurydziane - CA). Podobną procedurę przygotowania materiału zastosowano do izolacji patogenów z porażonych owoców: z owoców z widocznymi śladami porażenia wycinano zmienione fragmenty owoców i po powierzchniowej dezynfekcji wykładano je na sterylne podłoża agarowe (PDA, CA, V8sok, V8). Izolację fitopatogenów metodą pułapkową z wykorzystaniem zielonych jabłek odmiany Granny Smith przygotowano zgodnie z następującą procedurą: w jabłkach zdezynfekowanych powierzchniowo wydrążono otwory, w których umieszczano porażone fragmenty roślin (korzeni, kłaczy), przykrywano wyciętym fragmentem jabłka i zaklejano taśmą. Przygotowane pułapki inkubowano w temperaturze 22-23°C przez kilka dni, do momentu pojawienia się widocznych zmian na powierzchni jabłka, a następnie pojawiającą się grzybnię pasażowano na świeże podłoże PDA w celu uzyskania czystych kultur.

Zastosowane metody izolacji umożliwiły zebranie około 500 izolatów, z których 133 zostały zidentyfikowane na podstawie sekwencjonowania regionów ITS1 lub D2 LSU rDNA. Jednocześnie wykorzystane metody pozwoliły na identyfikację poszukiwanych, kluczowych patogenów owoców miękkich z rodzaju *Phytophthora*, *Colletotrichum*, *Verticillium* i *Botrytis*, a także innych rodzajów m.in. *Alternaria* czy *Fusarium*. Wykazano również obecność patogenów, które dotychczas nie były uznawane za zagrożenie dla plantacji owoców w Polsce tj. *Pilidium* spp., *Phialophora* spp., *Pestalotiopsis* spp., *Coniella* spp., *Gnomonia* spp. czy *Gnomoniopsis* spp., co może być związane ze zmianami klimatu oraz transferem materiału szkółkarskiego pomiędzy różnymi strefami klimatycznymi.

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu BIOSTRATEG, numer umowy BIOSTRATEG3/344433/16/NCBR/2018

Methods of isolating phytopathogens occurring in ecological strawberry cultivation

Agata Gryta, Jacek Panek, Magdalena Frąc

Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

e-mail: a.gryta@ipan.lublin.pl, m.frac@ipan.lublin.pl

The research included the isolation of strawberry phytopathogen from ecological plantations. Phytopathogens were isolated from soil samples, roots, plant fragments (leaves, rhizomes) as well as from fruit. Strains of phytopathogens were isolated by various methods including i) direct isolation by surface plating from serial dilutions on various culture media; ii) laying of leaf fragments with visible changes on the culture media (glucose-potato (PDA), multi-vegetable juice (V8), malt extract (MEA), and rose Bengal and antibiotics medium; iii) the use of apple traps by inoculating green apples of the Granny Smith variety with fragments of infected plant tissues; iv) laying the prepared root and fruit fragments on the growing media. Root fragments were prepared according to the procedure of washing plants in tap water, surface disinfection, and then the roots and rhizomes were barked, the interior was cut into small pieces (a few mm) and placed on prepared agar medium on Petri plates (glucose-potato substrate - PDA, juice substrate multi-vegetable substrate - V8 juice, ready-made multi-vegetable substrate - V8, corn substrate - CA). A similar procedure of material preparation was used for the isolation of pathogens from infected fruit: from fruit with visible traces of infection, the changed fruit fragments were cut out and, after surface disinfection, they were placed on sterile agar media (PDA, CA, V8sok, V8). The isolation of phytopathogens by the trapping method with the use of green apples of the Granny Smith variety was prepared according to the following procedure: holes were drilled in surface disinfected apples into which the infected plant fragments (roots, rhizomes) were placed, covered with a cut apple fragment and taped with tape. Prepared traps were incubated at 22-23 ° C for several days until visible changes appeared on the apple surface, and then the emerging mycelium was passaged onto fresh PDA medium to obtain pure cultures.

The methods applied to isolation of phytopathogens allowed the collection of approximately 500 isolates, of which 133 isolates were identified by sequencing the ITS1 or D2 LSU rDNA regions. At the same time, the methods allowed to identify the key pathogens of the soft fruit belonging to the genus *Phytophthora*, *Colletotrichum*, *Verticillium* and *Botrytis*, as well as the other genera *Alternaria* and *Fusarium*. Moreover, the presence of pathogens which so far had not been considered a threat to fruit plantations in Poland was also shown (*Pilidium* spp., *Phialophora* spp., *Pestalotiopsis* spp., *Coniella* spp., *Gnomonia* spp. or *Gnomoniopsis* spp.), which may be related to climate change and the transfer of nursery material between different climatic zones.

This paper was financed by The National Centre for Research and Development in frame of the project BIOSTRATEG, contract number BIOSTRATEG3/344433/16/NCBR/2018

Identyfikacja bakterii *Agrobacterium cucumeris* sp. nov. wywołujących chorobę szalonych korzeni na ogórkach uprawianych metodą hydroponiczną w Polsce

Michał Warabieda¹, Nemanja Kuzmanović², Paweł Trzciniński¹, Joanna Puławska¹

¹ Instytut Ogrodnictwa – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Ochrony Roślin, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice, Polska

² Julius Kühn Institute, Federal Research Centre for Cultivated Plants (JKI), Institute for Plant Protection in Horticulture and Forests, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Germany

e-mail: michal.warabieda@inhort.pl

Choroba szalonych korzeni wywoływana jest przez bakterie należące do klasy α -Proteobacteria, które posiadają plazmid Ri. Transfer i integracja specyficznego rejonu plazmidu, zwanego T-DNA do genomu biorcy oraz jego ekspresja w komórkach gospodarza skutkuje rozwojem choroby. W związku z tym następuje intensywna i niekontrolowana proliferacja komórek korzeni. Zmienione chorobowo korzenie pokryte są licznymi włoskami, które utrudniają pobieranie wody i składników odżywczych [1], co w konsekwencji prowadzi do strat ekonomicznych ponoszonych przez producentów warzyw. W kwietniu 2019 roku, dwóch polskich producentów ogórków uprawianych metodą hydroponiczną dostarczyło materiał roślinny z objawami choroby szalonych korzeni [2]. Otrzymane izolaty bakteryjne wykazały patogeniczność w testach na słoneczniku oraz ogórku, zaś wykonane testy PCR potwierdziły obecność plazmidów Ri [3-5]. W celu ustalenia statusu taksonomicznego izolatów, wykonano analizy sekwencji 16S rRNA, a także trzech genów metabolizmu podstawowego: *atpD*, *recA*, oraz *rpoB*, z których wynikało, że otrzymane izolaty należą do rodzaju *Agrobacterium* oraz że tworzą nowy, nieopisany dotąd gatunek. Sekwencjonowanie i analiza filogenomiczna wykazała przynależność bakterii do biowaru 1 i potwierdziła, że szczepy te należą do nowego gatunku. W efekcie badań zaproponowano utworzenie nowego gatunku *Agrobacterium cucumeris* sp. nov., ze szczepem O132^T (=CFBP 8997^T = LMG 32451^T) jako szczepem typowym.

Pracę wykonano w ramach projektu ZOR/2/2022 finansowanego przez MEiN.

Literatura

1. Nilsson O, Olsson O (1997) Getting to the root: The role of the *Agrobacterium rhizogenes* *rol* genes in the formation of hairy roots. *Physiologia Plantarum* 100: 463–473.
2. Warabieda M, Mikiciński A, Oleszczak M, Puławska J (2021) Identification of the causal agents of crazy root disease on hydroponically cultivated cucumber plants in Poland. *Eur J Plant Pathol* 161(3): 543–52.
3. Haas JH, Moore LW, Ream W, Manulis S (1995) Universal PCR primers for detection of phytopathogenic *Agrobacterium* strains. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 2879–2884.
4. Bosmans L, Paeleman A, Moerkens R, Wittemans L, Van Calenberge B, Van Kerckhove S, et al. (2016) Development of a qPCR assay for detection and quantification of rhizogenic *Agrobacterium* biovar 1 strains. *European Journal of Plant Pathology* 145: 719–730.
5. Weller SA, Stead DE (2002) Detection of root mat associated *Agrobacterium* strains from plant material and other sample types by post-enrichment TaqMan PCR. *Journal of Applied Microbiology* 92: 118–126.

Identification of *Agrobacterium cucumeris* sp. nov. as the causal agent of crazy roots on hydroponically cultivated cucumber plants in Poland

Michał Warabieda¹, Nemanja Kuzmanović², Paweł Trzciński¹, Joanna Puławska¹

¹The National Institute of Horticultural Research, Department of Phytopathology, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice, Poland

²Julius Kühn Institute, Federal Research Centre for Cultivated Plants (JKI), Institute for Plant Protection in Horticulture and Forests, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Germany

e-mail: michal.warabieda@inhort.pl

Crazy root disease is caused by bacteria belonging to α -Proteobacteria containing root-inducing plasmids (Ri-plasmids). Transfer and integration of a specific section of the plasmid, called T-DNA (transfer DNA) into host DNA with its subsequent expression within host cells results in development of the disease. Due to that, intensive and uncontrolled root proliferation occurs. Abnormal roots are covered with numerous hairs which are responsible for hindering the absorption of both water and nutrients [1], which finally leads to significant economic losses in vegetable production. In April 2019, hydroponically cultivated cucumber plants with characteristic symptoms of crazy root disease were found in two different commercial cucumber production greenhouses in Poland [2]. Isolated bacterial strains showed their pathogenicity towards sunflowers and cucumbers in pathogenicity tests, while PCR amplification tests confirmed their Ri-plasmids possession [3-5]. In order to determine taxonomic status of the strains, polyphasic taxonomic methods were used. Based on the results of the sequence analysis of the 16S rRNA and multilocus sequence analysis (MLSA) of the three housekeeping genes *atpD*, *recA* and *rpoB*, all the strains were placed within the genus *Agrobacterium* and create a novel *Agrobacterium* species. Whole-genome sequencing and phylogenomic analysis showed that the cucumber strains are located within the biovar 1 sub-clade of genus *Agrobacterium* spp. and create a new bacterial species. The performed overall characterization allowed to propose a new species as *Agrobacterium cucumeris* sp. nov., with O132^T (=CFBP 8997^T = LMG 32451^T) as the type strain.

This research was carried out in the frame of statutory grant number ZOR/2/2022.

References

1. Nilsson O, Olsson O (1997) Getting to the root: The role of the *Agrobacterium rhizogenes* *rol* genes in the formation of hairy roots. *Physiologia Plantarum* 100: 463–473.
2. Warabieda M, Mikiciński A, Oleszczak M, Puławska J (2021) Identification of the causal agents of crazy root disease on hydroponically cultivated cucumber plants in Poland. *Eur J Plant Pathol* 161(3): 543–52.
3. Haas JH, Moore LW, Ream W, Manulis S (1995) Universal PCR primers for detection of phytopathogenic *Agrobacterium* strains. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 2879–2884.
4. Bosmans L, Paeleman A, Moerkens R, Wittemans L, Van Calenberge B, Van Kerckhove S, et al. (2016) Development of a qPCR assay for detection and quantification of rhizogenic *Agrobacterium* biovar 1 strains. *European Journal of Plant Pathology* 145: 719–730.
5. Weller SA, Stead DE (2002) Detection of root mat associated *Agrobacterium* strains from plant material and other sample types by post-enrichment TaqMan PCR. *Journal of Applied Microbiology* 92: 118–126.

Identyfikacja i zróżnicowanie genetyczne wirusa mozaiki kolokazji (DsMV)

Agnieszka Taberska, Julia Minicka, Daria Budzyńska, Beata Hasiów-Jaroszewska

Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznań
e-mail: a.taberska@iorpib.poznan.pl

Wirus mozaiki kolokazji (*dasheen mosaic virus*, DsMV, rodzaj *Potyvirus*, rodzina Potyviridae) poraża rośliny z rodziny *Araceae*. Wirus przenoszony jest w sposób nietrwały przez wiele gatunków mszyc oraz poprzez zakażony materiał propagacyjny podczas wegetatywnego rozmnażania roślin [1]. DsMV po raz pierwszy został wykryty w 1970 roku w uprawach taro (*Colocasia esculenta*) i od tego czasu rozprzestrzenił się niemal na całym świecie [2].

Dotychczas nie wykryto występowania DsMV w Polsce, jednak w latach 2020-2021 zebrano 10 roślin z gatunku *Monstera adansonii* z objawami infekcji wirusowej: jasnozieloną mozaiką na blaszkach liściowych oraz skręconymi i zdeformowanymi liśćmi. Obecność DsMV potwierdzono w 3 spośród badanych roślin, za pomocą transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM) oraz techniki RT-PCR z użyciem starterów diagnostycznych DMV5708-5731F oraz DMV6131-6154R [1]. W celu uzyskania pełnej sekwencji genu kodującego białko płaszczka (CP) wirusa, zaprojektowano dwie pary starterów, które użyto w reakcjach RT-PCR. Specyficzność otrzymanych produktów RT-PCR potwierdzono za pomocą sekwencjonowania metodą Sanger, a uzyskane sekwencje CP wirusa wraz z 34 innymi sekwencjami CP pobranymi z Banku Genów, wykorzystano do analizy filogenetycznej. Nie stwierdzono jednoznacznego związku między położeniem geograficznym oraz gospodarzem, a zmiennością genetyczną wirusa, jednak polskie izolaty wirusa z *M. adansonii*, tworzyły odrębną grupę filogenetyczną. Badana populacja DsMV charakteryzowała się dużą zmiennością genetyczną, w obrębie sekwencji CP występowały liczne mutacje synonimiczne oraz niesynonimiczne, wykryto również obecność rekombinantów.

Wirus mozaiki kolokazji powoduje znaczne straty w plonie taro, wynoszące nawet do 50%. DsMV poraża też rośliny ozdobne wpływając na ich walory estetyczne i tym samym zmniejszając ich wartość handlową [3]. Rozprzestrzenienie się DsMV w polskich uprawach roślin ozdobnych, może prowadzić do strat ekonomicznych, dlatego szybka i efektywna diagnostyka jest niezwykle istotna. Ze względu na wysoki stopień zróżnicowania genetycznego populacji DsMV, wykrywanie wirusa w roślinie może być trudne, toteż niezbędna jest dokładna charakterystyka wirusa w celu opracowania uniwersalnych i specyficznych metod identyfikacji.

Literatura

1. Wang Y, Wu B, Borth WB, Hamim I, Green JC, Melzer MJ, Hu J (2017) Molecular Characterization and Distribution of Two Strains of *Dasheen mosaic virus* on Taro in Hawaii. *Plant Dis.* 101: 1980-1989.
2. Zettler FW, Foxe MJ, Hartman RD, Edwardson JR, Christie RG (1970) Filamentous viruses infecting dasheen and other araceous plants. *Phytopathology* 60: 983-987.
3. Reyes G, Ronnberg-Wastljung A, Nyman M (2006) Comparison of field performance between dasheen mosaic virus-free and virus-infected in vitro plants of cocoyam (*Xanthosoma* spp.) in Nicaragua. *Exp. Agric.* 42: 301-310.

Identification and genetic diversity of dasheen mosaic virus (DsMV)

Agnieszka Taberska, Julia Minicka, Daria Budzyńska, Beata Hasiów-Jaroszewska

Institute of Plant Protection – National Research Institute, Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznań
e-mail: a.taberska@iorpib.poznan.pl

Dasheen mosaic virus (DsMV, genus *Potyvirus*, family Potyviridae) infects plants belonging to family *Araceae*. DsMV is transmitted in non-persistent manner by several aphid species and by infected propagation material during vegetative reproduction of plants [1]. DsMV was first detected in 1970 in taro (*Colocasia esculenta*) and since then has spread almost all over the world [2].

So far DsMV hasn't been detected in Poland, although in 2020-2021 ten *M. adansonii* plants with virus-like symptoms, such as bright green mosaic, mottle and leaves distortion were collected. Infection of DsMV was confirmed in three out of ten collected plants, by transmission electron microscopy (TEM) and RT-PCR using diagnostic primers DMV5708-5731F and DMV6131-6154R [1]. In order to obtain nucleotide sequence of coat protein (*CP*), two pairs of primers were designed and used in RT-PCR reactions. Specificity of the obtained RT-PCR products was confirmed by Sanger sequencing. The obtained *CP* sequences with 34 other DsMV *CP* sequences available in GenBank, were used in phylogenetic analysis. There were no clear correlation between origin, host and genetic variability of virus, however the Polish isolates of DsMV isolated from *M. adansonii* plants created distinct cluster. Analyzed population of DsMV was highly diverse and shaped by both mutations and recombinations.

DsMV causes significant yield losses in taro cultivation, even up to 50%. DsMV also infects ornamental plants affecting their aesthetic qualities and decreasing their commercial value [3]. Spreading of DsMV in the Polish cultivation of ornamental plants, can lead to economic losses, therefore fast and effective diagnostics of infected plants is essential. Due to highly diverse population of DsMV, virus detection could be difficult, thus further analysis and characteristics of virus are necessary to develop universal and specific method for virus identification.

References

1. Wang Y, Wu B, Borth WB, Hamim I, Green JC, Melzer MJ, Hu J (2017) Molecular Characterization and Distribution of Two Strains of *Dasheen mosaic virus* on Taro in Hawaii. *Plant Dis.* 101: 1980-1989.
2. Zettler FW, Foxe MJ, Hartman RD, Edwardson JR, Christie RG (1970) Filamentous viruses infecting dasheen and other araceous plants. *Phytopathology* 60: 983-987.
3. Reyes G, Ronnberg-Wastljung A, Nyman M (2006) Comparison of field performance between dasheen mosaic virus-free and virus-infected in vitro plants of cocoyam (*Xanthosoma* spp.) in Nicaragua. *Exp. Agric.* 42: 301-310.

Wykrywanie utajonych infekcji jabłek powodowanych przez grzyby z rodzaju *Neofabraea* z wykorzystaniem techniki LAMP

Monika Michalecka, Anna Poniatowska, Joanna Puławska

Instytut Ogrodnictwa – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Ochrony Roślin, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

e-mail: monika.michalecka@inhort.pl

Gorzka zgnilizna jabłek, powodowana przez grzyby z rodzajów *Phlyctema* i *Neofabraea*, jest uznawana za najważniejszą chorobę przechowalniczą jabłek, przynoszącą znaczące straty plonu w większości regionów sadowniczych. Badania przeprowadzone w Instytucie Ogrodnictwa-PIB w Skierniewicach nad występowaniem i identyfikacją sprawców gorzkiej zgnilizny jabłek w Polsce wykazały, że czynnikiem sprawczym mogą być trzy gatunki grzybów: *Phlyctema vagabunda* (dawniej *Neofabraea vagabunda*), *N. perennans* oraz *N. kienholzii*, przy czym w przechowywanych jabłkach najczęściej występuje *P. vagabunda* (Michalecka i wsp., 2015). Do infekcji owoców w sadzie może dojść podczas całego sezonu wegetacyjnego. Początkowo choroba rozwija się w formie utajonej: zarodniki kiełkują na powierzchni owoców, dostają się do przetchlinek, ale nie rozwijają się dalej. Stan porażenia latentnego może utrzymywać się nawet przez kilka kolejnych miesięcy, w czasie których owoce są przechowywane w chłodni. Rozwój objawów chorobowych zbiega się zazwyczaj z momentem osiągnięcia przez jabłka dojrzałości konsumpcyjnej; strzępki grzyba przerastają przez przetchlinki do miąższu owoców i powodują szybki rozpad gnilny. Taka sytuacja stworzyła potrzebę opracowania szybkiej i czulej metody detekcji sprawców choroby w bezobjawowo porażonych owocach. W tym celu zaprojektowano dwa zestawy starterów do reakcji LAMP w oparciu o fragmenty genów: *acp1* - kodującego białko wiążące GTP oraz *asps* - kodującego proteazę aspartylową badanych grzybów. Reakcję LAMP optymalizowano w oparciu o DNA referencyjnych szczepów grzybów, sztucznie zakażonych jabłek z objawami gorzkiej zgnilizny, jednocześnie testując selektywność metody w stosunku do izolatów innych grzybów patogenicznych dla jabłek oraz DNA zdrowych jabłek. W celu zwiększenia czułości detekcji przed reakcją LAMP zastosowano preamplifikację docelowego DNA. Walidację metody przeprowadzono w reakcjach z DNA z jabłek z objawami gorzkiej zgnilizny pochodzącymi z naturalnych infekcji.

Opracowana metoda umożliwiła specyficzne wykrycie trzech gatunków grzybów: *P. vagabunda*, *N. perennans* i *N. kienholzii*. Czułość wykrywania patogenów wynosiła około 4 pg/μl w czystej kulturze grzybów i 1,0 – 1,5 pg/μl w mieszaninie z DNA jabłka. Opracowana metoda została wdrożona do Centralnego Laboratorium PIORiN i jego 3 oddziałów w Polsce w celu badania jabłek przeznaczonych na eksport pod kątem utajonych infekcji patogenami wywołującymi gorzką zgniliznę.

Pracę wykonano w ramach projektu FITOEXPORT (Gospostrateg1/385957/5/NCBR/2018) finansowanego przez NCBiR.

Literatura

1. Michalecka, M., Bryk, H., Poniatowska, A., & Puławska, J. (2016). Identification of *Neofabraea* species causing bull's eye rot of apple in Poland and their direct detection in apple fruit using multiplex PCR. *Plant Pathology*, 65(4), 643-654.

Detection of latent infections of apples caused by fungi of the genus *Neofabraea* using the LAMP technique

Monika Michalecka, Anna Poniatowska, Joanna Puławska

The National Institute of Horticultural Research, Department of Plant Protection, Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice, Poland

e-mail: monika.michalecka@inhort.pl

Bull's eye rot, caused by fungi of the genera *Phlyctema* and *Neofabraea*, is considered to be the most important storage disease of apples, causing significant yield losses in most orchard regions. Research conducted in The National Institute of Horticultural Research, Skierniewice on the occurrence and identification of the causal agents of the disease in Poland showed that three species of fungi can be responsible: *Phlyctema vagabunda* (formerly *Neofabraea vagabunda*), *N. perennans* and *N. kienholzii*, while the most frequently *P. vagabunda* occurs (Michalecka et al., 2015). In the orchard, fruit may be infected during the entire growing season. Initially, the disease develops in a latent form: spores germinate on the surface of the fruit, enter the lenticels, but do not develop further. The latent state may persist for several consecutive months while the fruit is stored in a cold store. The development of disease symptoms usually coincides with the time when the apples reach consumption maturity; the fungus hyphae grow through the lenticels into the fruit flesh and cause a quick rot development. This situation created the need to develop a quick and sensitive method of disease causative agents in asymptotically infected fruit. For this purpose, two sets of primers for the LAMP assay were designed based on gene fragments: *acp1* - coding GTP-binding protein and *asps* – coding aspartyl protease of the studied fungi. The LAMP reaction was optimized based on the DNA of reference fungal strains, artificially infected apples with symptoms of bitter rot, while selectivity of the method was tested with DNA of isolates of other fungi pathogenic to apples, as well as with DNA of healthy apples. In order to increase the sensitivity of detection before the LAMP reaction, preamplification of the target DNA was applied. The method was validated in reactions with DNA from apples with symptoms of bull's eye rot coming from natural infections.

The developed method allowed for the specific detection of three species of fungi: *P. vagabunda*, *N. perennans* and *N. kienholzii*. The sensitivity for pathogen detection was about 4 pg/μl in pure fungal culture and 1.0 - 1.5 pg/μl in a mixture with apple DNA. The developed method was implemented in the Central Laboratory of PIORiN and its 3 departments in Poland in order to test apples intended for export for latent infections with pathogens causing bull's eye rot.

This research was performed within the FITOEXPORT Project (Gospostrateg1/385957/5/NCBR/2018), financed from the National Center for Research and Development.

References

1. Michalecka, M., Bryk, H., Poniatowska, A., & Puławska, J. (2016). Identification of *Neofabraea* species causing bull's eye rot of apple in Poland and their direct detection in apple fruit using multiplex PCR. *Plant Pathology*, 65(4), 643-654.

Mikroskopowa i molekularna detekcja zarodników *Cercospora beticola* z prób powietrza w rejonach intensywnej uprawy buraka cukrowego w Polsce

Joanna Kaczmarek, Witold Irzykowski, Małgorzata Jedryczka

Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, ul. Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

e-mail: mjed@igr.poznan.pl

Cercospora beticola Sacc. jest jednym z najgroźniejszych patogenów buraka cukrowego we wszystkich rejonach uprawy tej rośliny. Straty przez niego powodowane wynikają ze zmniejszenia powierzchni asymilacyjnych liści, co silnie wpływa na rozwój roślin, skutkiem czego zmniejszają się korzenie i obniża się w nich zawartość cukru. Występowanie chwościka w dużej mierze uzależnione jest od obecności źródła porażenia roślin oraz warunków pogodowych. Optymalnymi warunkami dla rozwoju grzyba i infekcji jest temperatura powietrza od 25 do 30°C oraz 5 do 8 godzin wilgotności względnej powietrza przekraczającej 90%. Źródłem infekcji są porażone liście buraka oraz innych roślin żywicielskich, na których tworzą się zarodniki konidialne.

Monitorowanie stężenia zarodników w powietrzu pozwala na ustalenie początku ich uwalniania, a także śledzenie zmian, ustalenie terminu ich najwyższego stężenia, a także zależność pomiędzy ich obecnością w powietrzu a warunkami pogodowymi. W latach 2021 i 2022, od 15 czerwca do 30 sierpnia badano stężenie zarodników *C. beticola* przy zastosowaniu siedmiodniowych pułapek wolumetrycznych (Burkard Manufacturing, Wielka Brytania). Monitoring prowadzono w czterech regionach intensywnej uprawy buraka w Polsce, zróżnicowanych pod względem położenia geograficznego i klimatycznego. Pułapki znajdowały się w: Wysokiej Gryfińskiej (woj. zachodniopomorskie), Radostowie (woj. pomorskie), Hulczach (woj. lubelskie) oraz w Straszku (woj. łódzkie).

W 2021 roku zarodniki grzyba *C. beticola* najwcześniej zaobserwowano na wschodzie Polski, w Hulczach. Po ponad dwóch tygodniach ich obecność stwierdzono w Wysokiej Gryfińskiej. Następnie w dniu 5 lipca zarodniki odnotowano w Radostowie. W najpóźniejszym terminie zarodniki *C. beticola* wykryto w powietrzu w Straszku. Najwyższe stężenie zarodników *C. beticola* stwierdzono w dniu 9 sierpnia w Hulczach (51 zarodników w 1 m³ powietrza). W pozostałych lokalizacjach ich najwyższe stężenie wahało się od 9 do 18 sztuk w metrze sześciennym powietrza. W Hulczach zarodniki były obecne w powietrzu przez prawie cały okres badań. Porównano także liczebność zarodników obserwowanych pod mikroskopem oraz stężenie DNA *C. beticola* oznaczonych metodą Real-Time PCR. Połączenie metody molekularnej z mikroskopową stworzy szansę na precyzyjne monitorowanie stężenia zarodników tego patogena.

W chwili opracowywania streszczenia rozpoczęto monitoring zarodników grzybów *C. beticola* w 2022 roku. Szczegółowe wyniki zostaną przedstawione na konferencji Polskiego Towarzystwa Fitopatologicznego.

Microscopic and molecular detection of *Cercospora beticola* spores from air samples in intensive sugar beet growing regions of Poland

Joanna Kaczmarek, Witold Irzykowski, Malgorzata Jedryczka

Institute of Plant Genetics, Polish Academy of Sciences, Strzeszynska 34, 60-479 Poznan

e-mail: mjed@igr.poznan.pl

Cercospora beticola Sacc. is one of the most dangerous pathogens of sugar beet in all growing regions of this crop. The losses caused by this pathogen are due to a reduction of the assimilative surface of the leaves, which essentially affects the development of the plants, resulting in a decrease in the root size and a decrease in their sugar content. The occurrence of *Cercospora* leaf spot strongly depends on the presence of the source of the plant infestation and weather conditions. The optimal conditions for the development of the fungus and for the infection are an air temperature of 25 to 30°C and 5 to 8 hours of relative humidity above 90%. The source of infection are sugar beet leaves and other host plants, on which conidial spores are formed.

Monitoring of the spore concentration in the air allows to determine the onset of their release, as well as to track changes, to determine their highest concentration and the relationship between their presence in the air and weather conditions. In 2021 and 2022, the concentration of *C. beticola* spores was studied from June 15 to August 30 using seven-day volumetric spore traps (Burkard Manufacturing, UK). Monitoring was carried out in four regions of intensive sugar beet cultivation in Poland, varying in geographical and climatic location. The traps were located in: Wysoka Gryfińska (West Pomeranian Voivodeship), Radostowo (Pomeranian Voivodeship), Hulcze (Lublin Voivodeship) and Straszkw (Lodz Voivodeship).

In 2021, the earliest detection of *C. beticola* spores were in eastern Poland, in Hulcze. After more than two weeks, they also appeared in West Pomeranian province, in Wysoka Gryfińska. Then, on July 5, their presence was recorded in Radostowo. Lastly, *C. beticola* spores were detected in the air in Straszkw. The highest concentration of *C. beticola* spores was found on August 9 in Hulcze (51 spores in 1 m³ of air). In other locations, their highest concentration ranged from 9 to 18 in one cubic meter of air. In the Hulcze, spores were present in the air for almost the entire study period. The abundance of spores observed under a microscope and the concentration of *C. beticola* DNA determined by Real-Time PCR were also compared. Combining the molecular method with the microscopic method will provide an opportunity to precisely monitor the spore concentration of this pathogen.

At the time of preparing the abstract, monitoring of *C. beticola* fungal spores in 2022 has started. Detailed results will be presented at the conference of the Polish Phytopathological Society.

Postępy w wykrywaniu pojawiających się chorób drzew i nasion poprzez pomiary lotnych metabolitów wtórnych

Piotr Borowik¹, Tomasz Oszako², Rafał Tarakowski¹, Marcin Stocki³, Sławomir Ślusarski², Miłosz Tkaczyk², Justyna Anna Nowakowska⁴

¹ Politechnika Warszawska, Wydział Fizyki, ul. Koszykowa 75, 00-662 Warszawa

² Instytut Badawczy Leśnictwa, Zakład Ochrony Lasu, ul. Braci Leśnej 3, 05-090 Sękocin

³ Instytut Nauk Leśnych, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Politechnika Białostocka, ul. Wiejska 45 E, 15-351 Białystok

⁴ Instytut Nauk Biologicznych Wydział Biologii i Nauk o Środowisku, Zakład Biologii Molekularnej i Genetyki, ul. Wóycickiego 1/3, 01-938 Warszawa

e-mail: t.oszako@ibles.waw.pl

Badania biologiczne dotyczyły praktycznych aspektów takich jak rozróżnianie za pomocą kilku elektronicznych nosów lotnych metabolitów wtórnych, pomiędzy patogenicznymi lęgniowcami *Phytophthora plurivora* i *Pythium intermedium* oraz grzybami *Fusarium oxysporum* i *Rhizoctonia solani* [1]. Informacja z jakim patogenem mamy do czynienia w szkółkach leśnych umożliwia zaprojektowanie odpowiedniej strategii ochrony roślin (np. dobór właściwych środków ochrony roślin). Ze względu na liczne różnice w budowie morfologicznej i cyklach biologicznych pomiędzy grzybami (np. posiadającymi chitynę w ścianach komórkowych) i lęgniowcami (nie posiadającymi chityny), dostępne na rynku fungicydy oparte na blokowaniu syntezy ergosterolu z reguły nie działają na lęgniowce, które posiadają cholesterol. Poza tym, zgodnie z zasadami integrowanej ochrony roślin (Dyrektywa KE), preparaty chemiczne powinny być stosowane w ostateczności. Z tego względu rozróżnienie pomiędzy silnymi patogenami z rodzaju *Phytophthora* i słabszymi z rodzaju *Pythium* może być pomocne w podjęciu decyzji o przystąpieniu do zabiegów zwalczania lub ich zaniechaniu i akceptacji znośnych ekonomicznie strat. Ze względu na to że stosowane pestycydy często maskują chorobę nie ma możliwości zauważenia typowych symptomów chorobowych i wyeliminowania porażonych sadzonek, które dostają się na uprawy leśne. Zaniechanie stosowania środków ochrony roślin na rzecz selekcji zdrowego materiału roślinnego m.in. z udziałem e-nosa jest zatem zgodne z tą koncepcją, a dodatkowo nie dopuszcza do uodparniania się patogenów na stosowane środki chemiczne, nie zaruwa środowiska i nie niszczy życia biologicznego w glebie (różnorodności biologicznej). Drugim priorytetem badań, było stworzenie taniego i skutecznego narzędzia dla szkółkarzy leśnych, stąd stałe ulepszanie i testy nowych urządzeń (e-nosów), zarówno na czystych kulturach hodowanych organizmów jak i w interakcjach z porażonymi roślinami [2,3]. W tym ostatnim przypadku do testów wykorzystano kiełkujące siewki dębów szypułkowych (*Quercus robur*). Pozwoliły one na zróżnicowanie (oddzielenie) tych porażonych przez silnego patogena *P. plurivora* i słabego *Py. intermedium*. W myśl opisanej powyżej zasady informacja taka może być przydatna dla praktyków szkółkarzy do podjęcia decyzji wykonania zabiegów ratowniczych, gdy sprawcą porażenia żołędzi jest *P. plurivora* i ich zaniechania jeżeli stwierdzono tylko patogeny z rodzaju *Pythium*. Dodatkowo, poszukiwano nowych zastosowań stworzonych przez nas urządzeń m.in. do identyfikacji innych zagrożeń pojawiających się w środowisku leśnym jakim jest nowe zjawisko zamierania jesionów i jej sprawca grzyb *Hymenoscyphus fraxineus* [4].

1. P. Borowik, L. Adamowicz, R. Tarakowski, et al. (2021). *Sensors*, 21, 5868.
2. P. Borowik, L. Adamowicz, R. Tarakowski, et al. (2021). *Molecules*, 26, 5272.
3. P. Borowik, L. Adamowicz, R. Tarakowski, et al. (2021). *Sensors*, 21, 1326.
4. P. Borowik, T. Oszako, T. Malewski, et al. (2021). *Pathogens*, 10, 1359.
5. P. Borowik, M. Stocki, M. Fasano, et al. (2022). *Forests*, 13, 479.

Advances in detecting emerging tree and seed diseases by measuring volatile secondary metabolites

Piotr Borowik¹, Tomasz Oszako², Rafał Tarakowski¹, Marcin Stocki³, Sławomir Ślusarski², Miłosz Tkaczyk², Justyna Anna Nowakowska⁴

¹ Politechnika Warszawska, Wydział Fizyki, ul. Koszykowa 75, 00-662 Warszawa

² Instytut Badawczy Leśnictwa, Zakład Ochrony Lasu, ul. Braci Leśnej 3, 05-090 Sękocin

³ Instytut Nauk Leśnych, Wydział Budownictwa i Nauk o Środowisku, Politechnika Białostocka, ul. Wiejska 45 E, 15-351 Białystok

⁴ Instytut Nauk Biologicznych Wydział Biologii i Nauk o Środowisku, Zakład Biologii Molekularnej i Genetyki, ul. Wóycickiego 1/3, 01-938 Warszawa

e-mail: t.oszako@ibles.waw.pl

Biological studies concerned practical aspects such as distinguishing, by means of several electronic noses, volatile secondary metabolites, between the pathogenic oomycetes *Phytophthora plurivora* and *Pythium intermedium* and the fungi *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani* [1]. Information on which pathogen we deal with in forest nurseries enables the design of an appropriate plant protection strategy (e.g. selection of appropriate plant protection products). Due to the numerous differences in morphological structure and biological cycles between fungi (e.g. having chitin in their cell walls) and oomycetes (having no chitin), commercially available fungicides based on blocking ergosterol synthesis usually do not work on oomycetes, which have cholesterol. Besides, according to the principles of integrated pest management (IPM), chemical preparations should be used as a last resort. Therefore, a distinction between strong *Phytophthora* and weaker *Pythium* pathogens can be helpful in deciding whether or not to proceed with control measures and to accept economically bearable losses. Because the pesticides used often mask the disease, there is no way to spot typical disease symptoms and eliminate infected seedlings that enter forest crops. Abandoning the use of plant protection products in favor of the selection of healthy plant material, among others, with the participation of e-nose, is therefore consistent with this concept, and additionally does not allow the pathogens to become resistant to the chemicals used, does not poison the environment and does not destroy biological life in the soil (biodiversity). The second research priority, was to create a cheap and effective tool for forest nurserymen, hence the continuous improvement and testing of new devices (e-noses), both on pure cultures of cultured organisms and in interactions with infected plants [2,3]. In the latter case, germinated seedlings of pedunculate oak (*Quercus robur*) were used for testing. They allowed differentiation (separation) of those infected by the strong pathogen *P. plurivora* and the weak *Py. intermedium*. According to the principle described above, such information may be useful for nursery practitioners to decide how to carry out IPM when *P. plurivora* is the cause of acorn infestation. In addition, we searched for new applications of our devices, among others, to identify other threats emerging in the forest environment such as a new phenomenon of ash dieback cause by fungus *Hymenoscyphus fraxineus* [4].

References

1. P. Borowik, L. Adamowicz, R. Tarakowski, et al. (2021). *Sensors*, 21, 5868.
2. P. Borowik, L. Adamowicz, R. Tarakowski, et al. (2021). *Molecules*, 26, 5272.
3. P. Borowik, L. Adamowicz, R. Tarakowski, et al. (2021). *Sensors*, 21, 1326.
4. P. Borowik, T. Oszako, T. Malewski, et al. (2021). *Pathogens*, 10, 1359.
5. P. Borowik, M. Stocki, M. Fasano, et al. (2022). *Forests*, 13, 479.

Ocena skuteczności wybranych preparatów w ochronie jabłoni przed sprawcą parcha jabłoni (*Venturia inaequalis*)

Jacek Nawrocki, Stanisław Mazur

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Katedra Botaniki, Fizjologii i Ochrony Roślin, al. 29 Listopada 54, 31-425 Kraków

e-mail: nawrocki.j.j@gmail.com

Badania wykonano w 2020 i 2021 roku na drzewach odmiany 'Šampion' w Garlicy Murowanej. Testowano różne formy nawozu fosforo-potasowego Miligard, z dodatkiem siarki - Miligard "S". W 2020 r. zastosowano preparaty w formie oprysku w kombinacjach: Miligard w dawce 4 kg/ha, Miligard - 5 kg/ha, profilaktyczne fungicydy kontaktowe, fungicydy zapobiegawczo-interwencyjne oraz kontrola – drzewa nieopryskiwane. W 2021 r. kombinacje stanowiły preparaty: Miligard NEW w dawce 5 kg/ha, Miligard – 5 kg/ha, Miligard "S" płynny – 4 kg/ha, fungicydy zapobiegawczo-interwencyjne oraz kontrola. Terminy zabiegów wynikały z aktualnych wskazań monitoringu i sygnalizacji. Analizy zdrowotności liści i owoców wykonywano stosując 6 stopniową skalę [1]. Przeprowadzono także laboratoryjną ocenę działania leczniczego preparatów, opryskując wcześniej drzewa z widocznymi objawami chorobowymi na liściach i owocach. Następnie wysiewano zarodniki, z liści i owoców z poszczególnych kombinacji, na podłoże PDA. Po 24 godzinach zliczano ilość kiełkujących zarodników [2]. W 2020 roku kombinacje stanowiły: Miligard 0,6%, dwukrotnie Miligard 0,6%, Miligard 1%, Syllit 65 WP (dodyna) 0,13%, Difo 250 SC (difenokonazol) 0,027% oraz kontrola – drzewa niechronione. W 2021 r. kombinacjami były: Miligard NEW 1%, Miligard "S" płynny 0,8%, oraz Syllit 65 WP, Difo 250 SC i kontrola jak w poprzednim roku.

Wyniki obserwacji zdrowotności liści i owoców w 2020 r. wskazują, że zastosowane preparaty istotnie korzystnie wpłynęły na ograniczanie pojawu nowych objawów chorobowych w porównaniu do kontroli. Skuteczność Miligardu w niższej dawce była podobna jak preparatów zapobiegawczych. Najskuteczniejsza była ochrona z zastosowaniem fungicydów zapobiegawczych i interwencyjnych. Podobne wyniki uzyskano w 2021 r., pomimo korzystnych dla patogena warunków pogodowych w późniejszym okresie wegetacji. Rezultaty doświadczenia nad oddziaływaniem testowanych preparatów na zdolność kiełkowania zarodników *V. inaequalis* wskazują na to, że wszystkie zastosowane środki istotnie skutecznie ograniczały żywotność zarodników konidialnych w porównaniu do kontroli. Wpływ ten był zróżnicowany w zależności od zastosowanego preparatu oraz jego stężenia. Najskuteczniejszy był fungicyd układowy Difo 250 SC, mniej skuteczny był kontaktowy Syllit 65 WP. Miligard zastosowany dwukrotnie był skuteczniejszy w porównaniu do pozostałych kombinacji z tym preparatem. W 2021 r. stwierdzono podobne rezultaty, przy czym preparat Miligard "S" płynny wykazał lepszą efektywność w porównaniu do Miligard NEW.

Pracę wykonano w ramach badań zamawianych, finansowanych przez ICB Pharma Jaworzno.

Literatura

1. Mieszka B., Bielenin A. 2009. Wpływ nawozów dolistnych na występowanie parcha jabłoni [*Venturia inaequalis* Cooke Aderh.]. Zesz. Nauk. ISK Skierniewice, 17: 25-33.
2. Mieszka B., Bielenin A. 2011. Odporność grzyba *Venturia inaequalis* na dodynę w polskich sadach jabłoniowych. Prog. Plant Prot., 51(3): 1179-1183.

Evaluation of the effectiveness of selected preparations in the protection of apple trees against the causative agent of apple scab (*Venturia inaequalis*)

Jacek Nawrocki, Stanisław Mazur

Krakow University of Agriculture, Department of Botany, Physiology and Plant Protection, 29
Listopada Av. 54, 31-425 Krakow

e-mail: nawrocki.j.j@gmail.com

The research was carried out in 2020 and 2021 on trees of the 'Šampion' cultivar in Garlica Murowana. Various forms of the phosphorus-potassium fertilizer Miligard with the addition of sulfur - Miligard "S" were tested. In 2020, spraying preparations were used in the following combinations: Miligard at a dose of 4 kg/ha, Miligard - 5 kg/ha, preventive contact fungicides, preventive-intervention fungicides and control - untreated trees. In 2021, the combinations were the following preparations: Miligard NEW at a dose of 5 kg/ha, Miligard - 5 kg/ha, Miligard "S" liquid - 4 kg/ha, preventive-intervention fungicides and control. The dates of the treatments resulted from the current monitoring and signaling indications. Leaf and fruit health analyzes were performed using a 6-point scale [1]. Laboratory evaluation of the therapeutic effect of the preparations was also carried out, spraying trees with visible disease symptoms on leaves and fruit beforehand. The spores, of the leaves and fruits of the individual combinations, were then plated on the PDA medium. After 24 hours, the number of germinating spores was counted [2]. In 2020, the combinations were: Miligard 0.6%, twice Miligard 0.6%, Miligard 1%, Syllit 65 WP (dodine) 0.13%, Difo 250 SC (difenoconazole) 0.027% and control - unprotected trees. In 2021, the combinations were: Miligard NEW 1%, Miligard "S" liquid 0.8%, and Syllit 65 WP, Difo 250 SC and control as in the previous year.

The results of the observations of the health of leaves and fruit in 2020 indicate that the used preparations had a significant positive effect on reducing the appearance of new disease symptoms compared to the control. The effectiveness of Miligard in the lower dose was similar to that of the preventive preparations. The most effective protection was with the use of preventive and intervention fungicides. Similar results were obtained in 2021, despite favorable weather conditions for the pathogen in the later growing season. The results of the experiment on the influence of the tested preparations on the germination capacity of *V. inaequalis* spores indicate that all the applied measures significantly reduced the viability of the conidial spores compared to the control. This effect was diversified depending on the used preparation and its concentration. The systemic fungicide Difo 250 SC was the most effective, the contact Syllit 65 WP was less effective. Twice applied Milligard was more effective compared to other combinations with this preparation. In 2021, similar results were found, with the Miligard "S" liquid preparation showing better efficiency compared to Miligard NEW.

The work was performed as part of commissioned research financed by ICB Pharma Jaworzno.

References

1. Meszka B., Bielenin A. 2009. The effect of foliar fertilizers on the occurrence of apple scab [*Venturia inaequalis* Cooke Aderh.]. Zesz. Nauk. ISK Skierniewice, 17: 25-33.
2. Meszka B., Bielenin A. 2011. Resistance of *Venturia inaequalis* to dodine in Polish apple orchards. Prog. Plant Prot., 51(3): 1179-1183.

Badania *in vitro* antagonistycznego oddziaływania wybranych grzybów na *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem.

Barbara Wiewióra

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Radzików, 05-870 Błonie

e-mail: b.wiewiora@ihar.edu.pl

Grzyb *Bipolaris sorokiniana* jest znanym patogenem jęczmienia i przyczyną chorób podsuszkowych, plamistości liści, czy czernienia kłosów. Patogen ten jest powszechny nie tylko w jęczmieniu, ale także w pszenicy i wielu gatunkach traw na całym świecie. Jęczmień jest podatny na infekcję na każdym etapie swojego wzrostu. Spadek plonu może wynieść nawet ponad 30% i jest konsekwencją infekcji korzeni, dolnych międzywęźli, liści, kłosów i zbóż w nich [1]. Źródłem infekcji mogą być zarówno nasiona, jak i gleba [2]. Wysoka wilgotność sprzyja asymilacji liści, zarodnikowaniu i infekcji zbóż w kłosach [3].

W ochronie roślin uprawnych przed chorobami grzybowymi, coraz powszechniej stosuje się walkę biologiczną, do której coraz częściej wykorzystywane są gatunki grzybów oddziaływujące antagonistycznie w stosunku do określonego patogena. W przypadku organizmów saprotroficznych oddziaływanie antagonistyczne może wystąpić w/na samym gospodarzu lub w jego sąsiedztwie [4].

Celem badań była ocena oddziaływania pomiędzy wybranymi grzybami mikroskopowymi na wzrost i rozwój gatunku *Bipolaris sorokiniana* na sztucznym podłożu. Do badań użyto wyizolowane wcześniej z nasion grzyby: *B. sorokiniana*, *Acremonium* sp., *Alternaria alternata*, *Aspergillus* sp., *Botrytis cinerea*, *Chaetomium globosum*, *Cladosporium herbarum*, *Colletotrichum* sp., *Drechslera dematioidea*, *D. teres*, *Epicoccum purpurascens*, *Fusarium avenaceum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. heterosporum*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. poae*, *F. semitectum*, *F. solani*, *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum*, *Microdochium nivale*, *Nigrospora oryzae*, *Papularia arundinis*, *Papulaspora* sp., *Phoma* sp., *Sordaria fimicola*, *Stemphylium botryosum*, *S. consortiale*, *Trichoderma viride*. Gatunek *B. sorokiniana* i jeden z wcześniej izolowanych grzybów wszczepiano na szalce z pożywką PDA w odległości 2 cm od siebie i po 6 dniach inkubacji oceniano efekty interakcji mierząc średnicę kolonii tych grzybów. Uzyskane wyniki wskazują, że badane grzyby wpływały na wzrost *B. sorokiniana* w sposób zróżnicowany. Grzyb ten najslabiej wzrastał w obecności *Trichoderma viride*, *F. graminearum*, *Botrytis cinerea*, *Sordaria fimicola*, *Epicoccum purpurascens*, *F. sporotrichioides*, *F. culmorum*, *Nigrospora oryzae*, *Papularia arundinis*, *Phoma* sp., *Drechslera dematioidea* i *Alternaria alternata*. Brakiem oddziaływania antagonistycznego w stosunku do *B. sorokiniana* wykazały się *F. oxysporum*, *F. tricinctum* i *Acremonium* sp. Pozostałe gatunki tylko w niewielkim stopniu wpływały na zahamowanie wzrostu badanego gatunku.

5. Literatura:

1. Eng-Chong-Pua RR, Pelletier HR, Klinck HR (1985) Seedling blight, spot blotch and common root rot in Quebec and their effect on grain yield in barley. *Can J Plant Pathol* 7: 395-401.
2. Kumar J, Hückelhoven R, Beckhove U, Nagarajan S, Kogel KH (2001) A compromised Mlo pathway affects the response of barley to the necrotrophic fungus *Bipolaris sorokiniana* (teleomorph: *Cochliobolus sativus*) and its toxins. *The American Phytopathological Society* Vol. 91(2): 127 — 133.
3. Couture L, Sutton JC (1978) Relation of weather variables and host factors to incidence of airborne spores of *Bipolaris sorokiniana*. *Can J Bot* 56: 2162-2170.
4. Tucci M, Ruocco M, De Masi L, De Palma M, Lorito M (2011) The beneficial effect of *Trichoderma* spp. on tomato is modulated by the plant genotype. *Mol Plant Pathol* 12: 341–354.

***In vitro* screening of antagonistic effect of selected fungi on *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem.**

Barbara Wiewióra

Plant Breeding and Acclimatization Institute – National Research Institute, Radzików, 05-870 Błonie

e-mail: b.wiewiora@ihar.edu.pl

The fungus *Bipolaris sorokiniana* is a known pathogen of barley and the cause of common root rot, leaf spot disease, seedling blight and black point. This pathogen is common not only in barley, but also in wheat and many types of grasses around the world. Barley is susceptible to infection at all stages of its growth. The decrease in yield can be even more than 30% and is a consequence of the infection of the roots, lower internodes, leaves, ears and grains in them [1]. The source of infection can be both seeds and soil [2]. High humidity favors the assimilation apparatus of the leaves, sporulation and grain infection in the ears [3]. In the protection of cultivated plants against fungal diseases, increasingly biological combat is used, for which are used fungal species antagonistic interacting with a specific pathogen. The antagonistic interaction may occur in / on the host itself or in its vicinity in the case of saprotrophic organisms. [4].

The aim of the study was to evaluate the interaction between selected microscopic fungi on the growth and development of the species *Bipolaris sorokiniana* on an artificial medium. The following fungi isolated from seeds were used in the study: *B. sorokiniana*, *Acremonium* sp., *Alternaria alternata*, *Aspergillus* sp., *Botrytis cinerea*, *Chaetomium globosum*, *Cladosporium herbarum*, *Colletotrichum* sp., *Drechslera dematioidea*, *D. teres*, *Epicoccum purpurascens*, *Fusarium avenaceum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. heterosporum*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. poae*, *F. semitectum*, *F. solani*, *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum*, *Microdochium nivale*, *Nigrospora oryzae*, *Papularia arundinis*, *Papulaspora* sp., *Phoma* sp., *Sordaria fimicola*, *Stemphylium botryosum*, *S. consortiale*, *Trichoderma viride*. *B. sorokiniana* species and one of the previously isolated fungi were inoculated in a PDA medium in apart of 2 cm from each other, and after 6 days of incubation, the effects of the interaction were assessed by measuring the colony diameter of these fungi. The obtained results indicate that the tested fungi have had a diversified impact on the growth of *B. sorokiniana*. The most severely inhibited growth of *B. sorokiniana* was observed in the presence of *Trichoderma viride*, *F. graminearum*, *Botrytis cinerea*, *Sordaria fimicola*, *Epicoccum purpurascens*, *F. sporotrichioides*, *F. culmorum*, *Nigrospora oryzae*, *Papularia arundinis*, *Phoma* sp., *Drechslera dematioidea* and *Alternaria alternata*. No antagonistic effect against *B. sorokiniana* was found in the case of its growth in the presence of *F. oxysporum*, *F. tricinctum* and *Acremonium* sp. The remaining species only slightly inhibited the growth of the studied fungus.

References:

1. Eng-Chong-Pua RR, Pelletier HR, Klinck HR (1985) Seedling blight, spot blotch and common root rot in Quebec and their effect on grain yield in barley. *Can J Plant Pathol* 7: 395-401.
2. Kumar J, Hückelhoven R, Beckhove U, Nagarajan S, Kogel KH (2001) A compromised Mlo pathway affects the response of barley to the necrotrophic fungus *Bipolaris sorokiniana* (teleomorph: *Cochliobolus sativus*) and its toxins. *The American Phytopathological Society* Vol. 91(2): 127 — 133.
3. Couture L, Sutton JC (1978) Relation of weather variables and host factors to incidence of airborne spores of *Bipolaris sorokiniana*. *Can J Bot* 56: 2162-2170.
4. Tucci M, Ruocco M, De Masi L, De Palma M, Lorito M (2011) The beneficial effect of *Trichoderma* spp. on tomato is modulated by the plant genotype. *Mol Plant Pathol* 12: 341–354.

Implementacja niskotemperaturowej plazmy pod ciśnieniem atmosferycznym do eliminacji patogenów roślinnych z powierzchni nasion ważnych ekonomicznie roślin

Michał Prusiński¹, Jakub Orłowski¹, Agata Motyka-Pomagruk¹, Anna Dzimitrowicz², Weronika Babińska¹, Dominik Terefinko², Michał Rychłowski³, Paweł Pohl², Ewa Łojkowska¹, Piotr Jamróz² oraz Wojciech Śledź¹

¹Zakład Ochrony i Biotechnologii Roślin, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, Gdańsk

² Katedra Chemii Analitycznej i Metalurgii Chemicznej, Politechnika Wrocławska, Wrocław

³ Pracownia Biologii Molekularnej Wirusów, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, Gdańsk

e-mail: prusinski.michal98@gmail.com

Patogeny roślin odpowiadają za zniszczenie około 16% plonów rocznie na świecie. Przekłada się to na setki miliardów dolarów strat. Ponieważ w ciągu ostatnich 5 lat zakazano stosowania ponad 70 pestycydów w UE, istnieje ogromne zapotrzebowanie na nowe metody ochrony roślin. Rozwiązaniem może być bezpośrednio zastosowanie zimnej plazmy pod ciśnieniem atmosferycznym (CAPP), która oprócz reaktywnych form tlenu i azotu generuje promieniowanie UV. Celem pracy było zbadanie właściwości antybakteryjnych plazmy wyładowania barierowego (DBD) przeciwko *Dickeya* i *Pectobacterium* spp. inokulowanych na nasionach fasoli mung. Ponadto, zbadano wpływ plazmy DBD na kiełkowanie i wzrost nasion fasoli mung. Ekspozycja na plazmę DBD trwająca 2-4 min doprowadziła do ponad 99,91% (3,07 log) zmniejszenia ilości żywotnych komórek fitopatogenów. Również ten zabieg stymulował o 3-4% szybkość kiełkowania nasion. Nadto, mechanizm działania plazmy DBD został zobrazowany za pomocą mikroskopii TEM i SEM. Udowodniliśmy, że bezpośrednia obróbka plazmą DBD może być skutecznym narzędziem do zwalczania fitopatogenów bakteryjnych bez hamowania wzrostu roślin. Nasze badania sugerują potencjalne zastosowanie CAPP jako przyjaznych dla środowiska i innowacyjnych metod ochrony roślin.

Finansowanie: NCN-OPUS 17: UMO-2019/33/B/NZ9/00940

Implementation of a non-thermal atmospheric pressure plasma for eradication of plant pathogens from a surface of economically important seeds

Michał Prusiński¹, Jakub Orłowski¹, Agata Motyka-Pomagruk¹, Anna Dzimitrowicz², Weronika Babińska¹, Dominik Terefinko², Michał Rychłowski³, Paweł Pohl², Ewa Łojkowska¹, Piotr Jamróz² and Wojciech Śledź¹

¹Laboratory of Plant Protection and Biotechnology, Intercollegiate Faculty of Biotechnology University of Gdansk and Medical University of Gdansk, Gdansk, Poland

² Department of Analytical Chemistry and Chemical Metallurgy, Wrocław University of Science and Technology, Wrocław, Poland

³Laboratory of Virus Molecular Biology, Intercollegiate Faculty of Biotechnology University of Gdansk and Medical University of Gdansk, Gdansk, Poland

e-mail: prusinski.michal98@gmail.com

Plant pathogens destroy around 16% of crop yield annually. This translates to hundreds of billions of US\$. With over 70 pesticides banned in the EU in last 5 years, there is great need for new plant protection methods. Direct application of cold atmospheric pressure plasmas (CAPPs), which generates UV radiation in addition to reactive oxygen and nitrogen species might be a solution. The aim of this study was to examine antibacterial properties of a dielectric barrier discharge (DBD) plasma against *Dickeya* and *Pectobacterium* spp. inoculated on mung bean seeds. Besides, the influence of the DBD plasma on germination and growth of mung bean seeds was investigated. The DBD exposure lasting 2-4 min led to over 99.91% (3.07 log) reduction in the amount of viable phytopathogenic cells. Also, this treatment stimulated by 3-4% the seed's germination rate and by up to 13% the subsequent early growth of the seedlings. Furthermore, the mechanism of DBD plasma action has been elucidated with TEM and SEM microscopy. We proved that the direct DBD plasma treatment can be an efficient tool to fight bacterial phytopathogens without impeding plant growth. Our research suggests the potential applicability of CAPPs as eco-friendly and innovative plant protection methods.

Funding: NCN-OPUS 17: UMO-2019/33/B/NZ9/00940

Woda elektrolizowana jako alternatywna zaprawa dla nasion warzyw

Stanisław Mazur¹, Jacek Nawrocki¹, Edward Kunicki², Paulina Lalewicz¹

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ¹Katedra Botaniki, Fizjologii i Ochrony Roślin, ²Katedra Ogrodnictwa, Al. 29 Listopada 54, 31-425 Kraków

e-mail: nawrocki.j.j@gmail.com

Wymagania Komisji Europejskiej odnośnie redukcji dozwolonych substancji aktywnych spowodowały, że obecnie brak zarejestrowanych fungicydów do zaprawiania nasion warzyw. Ograniczenia te związane są ze strategią UE "Od pola do stołu" oraz Krajowym Planem Działania na rzecz ograniczenia ryzyka związanego ze stosowaniem środków ochrony roślin na lata 2018–2022 [1]. Stąd poszukuje się możliwości zastąpienia wycofanych fungicydów innymi substancjami, np. wodą elektrolizowaną, która jest wykorzystywana do zwalczania mikroorganizmów powodujących psucie warzyw [2]. W badaniach testowano ustabilizowaną wodę elektrolizowaną Agro ECA (zawartość kwasu podchlorowego 2000 ppm (0,2%). Próby nasion wybranych gatunków warzyw (pomidor, ogórek, papryka, sałata, kapusta, cebula, marchew, pietruszka kalafior) odkażano roztworami o stężeniu 1% i 1,5% przez 60 sekund. Następnie materiał siewny przetrzymywano w temperaturze pokojowej, a po 7 i 14 dniach oceniano ilość nasion czystych, nasion przzerośniętych koloniami bakterii lub grzybnią oraz nasion z mieszanymi koloniami mikroorganizmów. W warunkach *in vitro* testowano wpływ różnych stężeń (0,5%, 1,5 % i 2,5%) Agro Eca na wzrost wybranych patogenów warzyw: *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* oraz *Stromatinia cepivora*. Skuteczność zastosowanej wody elektrolizowanej wyliczano wg wzoru Abbotta.

Zastosowanie Agro Eca istotnie wpływało na ograniczenie liczby nasion zainfekowanych mikroorganizmami, w porównaniu do nasion niedezynfekowanych. Jedynie u marchwi i sałaty nie uzyskano nasion całkowicie wolnych od mikroorganizmów ale traktowanie Agro Eca redukowało istotnie liczbę kolonii mikroorganizmów w porównaniu do kontroli. Końcowa zdolność kiełkowania nasion testowanych gatunków wykonano wg normy PN-79/R-65950, wykazała istotny korzystny wpływ wody elektrolizowanej na procent skiełkowanych nasion w przypadku pomidora, ogórka, sałaty, kapusty, marchwi pietruszki i kalafiora. W odniesieniu do nasion papryki i kapusty nie stwierdzono istotnego statystycznie wpływu stosowania Agro Eca na procent skiełkowania ale liczba skiełkowanych nasion była wyższa jak w kontroli. Zastosowanie w warunkach „*in vitro*” wody elektrolizowanej potwierdziło jej skuteczność w stężeniach 1,5% oraz 2,5% w stosunku do *Sclerotinia sclerotiorum* i *Stromatinia cepivora*. W stosunku do *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* i *Botrytis cinerea* woda elektrolizowana hamowała wzrost liniowy grzybni ale jej skuteczność była poniżej 50%. Natomiast zastosowanie Agro Eca nie miało wpływu na hamowanie wzrostu grzybni *Rhizoctonia solani*.

Pracę wykonano w ramach badań zamawianych, finansowanych przez ARiMR.

Literatura

1. Sosnowska D. 2018. Konserwacyjna metoda biologiczna wsparciem integrowanej ochrony roślin i rolnictwa ekologicznego. Prog. Plant Prot. 58 (4): 288-293.
2. Feliziani E., Lichter A., Smilanick L.J., Ippolito A. 2016. Disinfecting agents for controlling fruit and vegetable diseases after harvest. Postharvest Biol. Technol., 122: 53-69. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.04.016>

Electrolysed water as an alternative seed treatment for vegetables

Stanisław Mazur¹, Jacek Nawrocki¹, Edward Kunicki², Paulina Lalewicz¹

Krakow University of Agriculture, ¹Department of Botany, Physiology and Plant Protection, ²Department of Horticulture, 29 Listopada Av. 54, 31-425 Krakow

e-mail: nawrocki.j.j@gmail.com

The requirements of the European Commission regarding the reduction of permitted active substances meant that there are currently no registered fungicides for the treatment of vegetable seeds. These restrictions are related to the EU's Farm to Fork Strategy and the National Action Plan for reducing the risks associated with the use of plant protection products for 2018-2022 [1]. Hence, the possibility of replacing the withdrawn fungicides with other substances, eg electrolysed water, which is used to combat microorganisms that cause spoilage of vegetables, is being searched for [2]. Agro ECA stabilized electrolysed water was tested in the research (hypochlorous acid content 2000 ppm (0.2%). Samples of seeds of selected vegetable species (tomato, cucumber, pepper, lettuce, cabbage, onion, carrot, parsley, cauliflower) were decontaminated with 1% solutions and 1.5% for 60 seconds. Then the seed material was kept at room temperature, and after 7 and 14 days, the number of pure seeds, seeds overgrown with bacterial colonies or mycelium and seeds with mixed colonies of microorganisms was assessed. The effect of various concentrations (0.5%, 1.5% and 2.5%) of Agro Eca was tested under *in vitro* conditions on the growth of selected vegetable pathogens: *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Stromatinia cepivora*. The effectiveness of the used electrolysed water was calculated according to the Abbott formula.

The use of Agro Eca significantly reduced the number of seeds infected with microorganisms, compared to non-disinfected seeds. Only carrots and lettuces did not obtain seeds completely free from microorganisms, but the treatment with Agro Eca significantly reduced the number of microbial colonies compared to the control. The final germination of seeds of the tested species was carried out in accordance with the PN-79 / R-65950 standard, which showed a significant beneficial effect of electrolysed water on the percentage of germinated seeds in the case of tomato, cucumber, lettuce, cabbage, parsley carrots and cauliflower. With regard to the seeds of pepper and cabbage, no statistically significant effect of Agro Eca application was found on the percentage of germination, but the number of sprouted seeds was higher than in the control. The use of electrolysed water in *in vitro* conditions confirmed its effectiveness at concentrations of 1.5% and 2.5% in relation to *Sclerotinia sclerotiorum* and *Stromatinia cepivora*. Compared to *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* and *Botrytis cinerea*, the electrolysed water inhibited the linear growth of the mycelium, but its effectiveness was below 50%. However, the use of Agro Eca did not inhibit the growth of *Rhizoctonia solani*.

The work was carried out as part of commissioned research financed by ARiMR.

References

1. Sosnowska D. 2018. The contribution of conservation biological control method to integrated plant protection and organic farming. *Prog. Plant Prot.* 58 (4): 288-293.
2. Feliziani E., Lichter A., Smilanick L.J., Ippolito A. 2016. Disinfecting agents for controlling fruit and vegetable diseases after harvest. *Postharvest Biol. Technol.*, 122: 53-69. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.04.016>

Wpływ wybranych substancji pochodzenia roślinnego na jakość przechowywanych nasion cebuli (*Allium cepa* L.)

Hanna Dorna, Dorota Szopińska, Magdalena Jarosz

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Fitopatologii i Nasiennictwa, ul. Dąbrowskiego 159, 60-594 Poznań

e-mail: hanna.dorna@up.poznan.pl

Istotnym problemem w czasie przechowywania nasion jest ich starzenie się, które objawia się początkowo pogorszeniem ich wigoru, a następnie zdolności kiełkowania. Jakość przechowywanych nasion pogarszają również występujące na nich grzyby patogeniczne i saprotroficzne. Traktowanie nasion substancjami pochodzenia roślinnego, które są nieszkodliwe dla środowiska, a jednocześnie zawierają związki o właściwościach przeciwutleniających i przeciwgrzybowych, może poprawić jakość przechowywanych nasion. Celem prowadzonych badań była ocena wpływu preparatów Biosept Active (s.a. 33% ekstraktu z mięszu i nasion grejpfruta) i Citrogrep (s.a. 33% ekstraktu z nasion grejpfruta), soku z aronii oraz resweratrolu na kiełkowanie, wigor i zdrowotność przechowywanych nasion cebuli. Nasiona moczone przez 30 min w 0,25% roztworach preparatów Biosept Active i Citrogrep, 0,001 i 0,005% roztworach resweratrolu oraz w roztworach soku z aronii o stężeniach 5 i 25%. Po traktowaniu nasiona suszono w temperaturze 20°C i wilgotności względnej powietrza 45% przez 48 h, a następnie przechowywano w plastikowych pojemnikach w temperaturze 4 i 20°C przez 3 miesiące. Kontrolę stanowiły nasiona nietraktowane, moczone w wodzie destylowanej oraz zaprawiane fungicydem Zaprawa Nasienna T w dawce 3 g kg⁻¹ nasion. Przed i po przechowywaniu oceniono zdolność kiełkowania [1], wigor i zdrowotność nasion. Wigor nasion określono za pomocą szybkości kiełkowania, natomiast zdrowotność nasion oceniano na pożywce agarowo-dekstrozowo-ziemniaczanej (PDA). Żaden z zastosowanych sposobów traktowania nasion nie miał wpływu na ich zdolność kiełkowania przed i po przechowywaniu. Traktowanie nasion 0,005% roztworem resweratrolu pogorszyło ich szybkość kiełkowania przed przechowywaniem. Po przechowywaniu nasiona traktowane kiełkowały szybciej niż nasiona nietraktowane. Przed przechowywaniem najwięcej nasion wolnych od grzybów obserwowano po zaprawianiu fungicydem, a następnie po traktowaniu roztworami preparatów Biosept Active i Citrogrep. Większy odsetek nasion wolnych od grzybów, w porównaniu do nasion nietraktowanych i moczonych w wodzie destylowanej, stwierdzono także po traktowaniu nasion 25% roztworem soku z aronii. Przed przechowywaniem nietraktowane nasiona cebuli były w największym stopniu zasiedlone przez grzyby *Alternaria alternata*, *Penicillium* spp. oraz *Stemphylium botryosum*. Traktowanie nasion preparatami Biosept Active i Citrogrep ograniczyło występowanie tych grzybów. Roztwory soku z aronii zmniejszyły zasiedlenie nasion przez *Penicillium* spp. i *S. botryosum*. Po przechowywaniu, zarówno w temperaturze 4 jak i 20°C, najwięcej nasion wolnych od grzybów stwierdzono po zaprawianiu fungicydem, a następnie preparatem Biosept Active i 25% roztworem soku z aronii. Spośród substancji pochodzenia roślinnego, preparat Biosept Active ograniczył w największym stopniu występowanie *A. alternata* i grzybów rodzaju *Penicillium* na nasionach cebuli.

Literatura

1. International Rules for Seed Testing (2020) International Seed Testing Association. Bassersdorf, Switzerland.

The effect of selected substances of plant origin on a quality of stored onion (*Allium cepa* L.) seeds

Hanna Dorna, Dorota Szopińska, Magdalena Jarosz

Poznań University of Life Sciences, Department of Phytopathology, Seed Science and Technology, Dąbrowskiego 159, 60-594 Poznań

e-mail: hanna.dorna@up.poznan.pl

The important problem during seed storage is seed ageing, which appears initially with deterioration of seed vigour, followed by deterioration of germination capacity. Pathogenic and saprotrophic fungi occurring on seeds decline also a quality of stored seeds. Treating seeds with substances of plant origin, that are harmless for the environment and at the same time contain compounds with antioxidant and antifungal properties, may improve their quality. The aim of the studies was to evaluate the effect Biosept Active (a.i. 33% extract of grapefruit pulp and seeds), Citrogrep (a.i. 33% grapefruit seed extract), chokeberry juice and resveratrol on germination, vigour and health of stored onion seeds. The seeds were soaked for 30 min in 0.25% solutions of Biosept Active and Citrogrep, 0.001 and 0.005% solutions of resveratrol and in solutions of chokeberry juice at the concentrations of 5 and 25%. After treatments, the seeds were dried at 20°C and 45% relative humidity for 48 h, and then stored in plastic containers at 4 and 20°C for 3 months. Controls included untreated seeds, seeds soaked in distilled water and treated with a fungicide Zaprawa Nasienna T at a dose of 3 g kg⁻¹ seeds. Before and after storage seed germination capacity [1], vigour and health were evaluated. Seed vigour was determined by means of the speed of germination, whereas seed health was evaluated on potato dextrose agar (PDA). None of the applied seed treatments affected seed germination capacity before and after storage. Treating seeds with 0.005% solution of resveratrol deteriorated their speed of germination before storage. After storage treated seeds germinated faster than untreated ones. Before storage the highest number of seeds free of fungi was observed after fungicide treatment followed by Biosept Active and Citrogrep treatments. A higher percentage of seeds free of fungi, compared to untreated seeds and seeds soaked in distilled water, was noted also after 25% chokeberry juice treatment. Untreated onion seeds before storage were infested to the largest extent with *Alternaria alternata*, *Penicillium* spp. and *Stemphylium botryosum*. Treating seeds with Biosept Active and Citrogrep reduced the incidence of these fungi. Solutions of chokeberry juice decreased seed infestation with *Penicillium* spp. and *S. botryosum*. After storage at both 4 and 20°C, the highest number of seeds free of fungi was found after fungicide treatment, followed by Biosept Active and 25% chokeberry juice treatments. From among substances of plant origin, Biosept Active controlled the incidence of *A. alternata* and *Penicillium* spp. on onion seeds to the greatest degree.

References

1. International Rules for Seed Testing (2020) International Seed Testing Association. Bassersdorf, Switzerland.

Wpływ wybranych hydrolatów roślinnych na zdrowotność nasion cebuli (*Allium cepa* L.)

Agnieszka Rosińska

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Fitopatologii i Nasiennictwa, ul. Dąbrowskiego 159,
60-594 Poznań

e-mail: agnieszka.rosinska@up.poznan.pl

Cebula zwyczajna (*Allium cepa* L.) jest jednym najczęściej uprawianych warzyw w Polsce. Choroby cebuli wywoływane przez grzyby w znacznym stopniu wpływają na obniżenie jakości i ilości plonów. Jedną z metod ochrony jest stosowanie materiału siewnego wolnego od grzybów. Celem doświadczenia było określenie wpływu zaprawiania nasion roztworami hydrolatów z oregano i kokosa, na ich zasiedlenie przez poszczególne grzyby.

Nasiona cebuli odmian Octavia i Wolska TOR traktowano roztworami hydrolatów z oregano i kokosa (AJEDEN Sp. z o.o.), otrzymanych w wyniku destylacji parą wodną. Zastosowano roztwory hydrolatów o stężeniach 10, 20, 50 i 100%, czas moczenia nasion wynosił 30 minut. Nasiona nietraktowane, zaprawiane fungicydem Dithane NeoTec 75 WG oraz moczone w wodzie przez 30 min stanowiły kontrolę.

W celu określenia zasiedlenia nasion przez poszczególne grzyby oraz odsetka nasion wolnych od grzybów wykonano test agarowy. Nasiona, w 4 powtórzeniach po 50, wyłożono na płytki Petriego z pożywką ziemniaczano-dekstrozowo-agarową (PDA) z dodatkiem streptomycyny (100 ppm). Płytki z nasionami (10 nasion na płytkę) inkubowano w temperaturze 20°C, w warunkach zmiennego oświetlenia 12 h światła NUV i 12 h ciemności, przez 10 dni.

Roztwory hydrolatu z oregano o najwyższych stężeniach 50 i 100% najskuteczniej ograniczyły lub wyeliminowały występowanie grzybów *Alternaria alternata*, *Botrytis allii*, *B. cinerea*, *Cladosporium* spp. i *Fusarium* spp. na nasionach cebuli obu badanych prób. Nasiona traktowane roztworami hydrolatu z kokosa, niezależnie od ich stężenia, oraz roztworami z hydrolatu z oregano o stężeniach 10 i 20%, równie skutecznie jak fungicyd zmniejszyły zasiedlenie nasion odm. Octavia przez *B. allii* i *B. cinerea* oraz nasion obu odmian przez *A. alternata*. Po moczeniu nasion w roztworach hydrolatu z kokosa zaobserwowano istotnie mniej nasion opanowanych przez grzyby z rodzaju *Cladosporium*. Istotny spadek zasiedlenia nasion odmiany Octavia przez grzyby z rodzaju *Fusarium*, w porównaniu do nasion nietraktowanych i kontroli wodnej, stwierdzono po zastosowaniu 20, 50 i 100% roztworów hydrolatu z kokosa. Ponadto stwierdzono, że 50% roztwór hydrolatu z kokosa ograniczył występowanie tych grzybów równie skutecznie jak zastosowany fungicyd. W przypadku nasion odm. Wolska TOR nie zaobserwowano zmniejszenia zasiedlenia przez *Fusarium* spp. po zastosowaniu wymienionych wcześniej roztworów. Stwierdzono natomiast istotne zwiększenie opanowania nasion przez te grzyby po moczeniu ich w wodzie, w 10% roztworze hydrolatu z kokosa oraz 10 i 20% roztworach hydrolatu z oregano. W przypadku odm. Octavia po zastosowaniu 50 i 100% roztworów z hydrolatów zwiększył się istotnie odsetek nasion wolnych od grzybów. Roztwory te były skuteczniejsze niż fungicyd, po którym nie zaobserwowano nasion wolnych od grzybów. W przypadku odm. Wolska TOR więcej nasion wolnych od grzybów odnotowano jedynie po moczeniu nasion w 100% roztworze hydrolatu z oregano.

Effect of selected plant hydrolates on the health of onion (*Allium cepa* L.) seeds

Agnieszka Rosińska

Poznan University of Life Sciences, Department of Phytopathology, Seed Science and Technology, Dąbrowskiego 159, 60-594 Poznan

e-mail: agnieszka.rosinska@up.poznan.pl

Onion (*Allium cepa* L.) is one of the most frequently cultivated vegetables in Poland. Onion diseases caused by fungi significantly reduce the quality and quantity of the crop. One of the protection methods is the use of fungus-free sowing material. The aim of the experiment was to determine the effect of seed dressing with solutions of oregano and coconut hydrolates on their colonisation by particular fungi.

Seeds of onion cv. Octavia and Wolska TOR were treated with solutions of hydrolates from oregano and coconut (AJEDEN Sp. z o.o.) obtained by steam distillation. Hydrolate solutions of 10, 20, 50 and 100% concentration were used, the soaking time of the seeds was 30 minutes. Untreated seeds, treated with Dithane NeoTec 75 WG fungicide and soaked in water for 30 min were the controls.

An agar test was performed to determine seed colonisation by individual fungi and the percentage of seeds free of fungi. Seeds, in 4 replicates of 50, were placed in Petri dishes with potato-dextrose-agar (PDA) medium with addition of streptomycin (100 ppm). The seed plates (10 seeds per plate) were incubated at 20°C, under alternating conditions of 12 h of NUV light and 12 h of darkness, for 10 days.

Oregano hydrolate solutions with the highest concentrations of 50 and 100% were the most effective in reducing or eliminating the occurrence of *Alternaria alternata*, *Botrytis allii*, *B. cinerea*, *Cladosporium* spp. and *Fusarium* spp. on onion seeds of both tested samples. Seeds treated with coconut hydrolate solutions, regardless of their concentration, as well as with oregano hydrolate solutions at concentrations of 10 and 20%, were as effective as the fungicide in reducing colonisation of seeds of Octavia cultivar by *B. allii* and *B. cinerea*, and *A. alternata* of both cultivars. After soaking the seeds in coconut hydrolate solutions, significantly fewer seeds controlled by *Cladosporium* genus fungi were observed. A significant decrease in the colonisation of Octavia cultivar seeds by fungi of the genus *Fusarium* was observed after the application of 20, 50 and 100% coconut hydrolate solutions compared to untreated seeds and water control. Moreover, it was found that a 50% solution of coconut hydrolate reduced the occurrence of these fungi as effectively as the applied fungicide. In the case of seeds of the Wolska TOR cultivar, no reduction in the incidence of *Fusarium* spp. was observed after the application of the above-mentioned solutions. However, a significant increase in the control of seeds by these fungi was found after soaking them in water, 10% coconut hydrolate solution and 10 and 20% oregano hydrolate solutions. In the case of cultivar Octavia, the percentage of seeds free of fungi increased significantly after application of 50 and 100% hydrolate solutions. These solutions were more effective than the fungicide, after which no seeds free of fungi were observed. In the case of cultivar Wolska TOR, a greater number of seeds free of fungi was noticed only after soaking the seeds in a 100% solution of oregano hydrolate.

Wpływ nadtlenu wodoru na kiełkowanie, wigor i zdrowotność nasion kapusty (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.)

Dorota Szopińska, Hanna Dorna, Juan Manuel Ley Lopez

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Fitopatologii i Nasiennictwa, ul. Dąbrowskiego 159, 60-594 Poznań

e-mail: dorota.szopinska@up.poznan.pl

Rozwój rolnictwa ekologicznego oraz zmniejszająca się liczba dostępnych/dozwolonych syntetycznych środków ochrony roślin powoduje wzrost zainteresowania alternatywnymi metodami zaprawiania nasion. Celem doświadczenia było określenie wpływ nadtlenu wodoru (H_2O_2), organicznego związku charakteryzującego się silnymi właściwościami przeciwgrzybowymi [1, 2], na kiełkowanie, wigor i zdrowotność nasion kapusty. Testowano dwie próby nasion różniące się istotnie jakością; próba I charakteryzowała się znacznie niższą zdolnością kiełkowania i wyższym zasiedleniem nasion przez grzyby niż próba II. Nasiona traktowano 3%, 6% i 9% roztworami H_2O_2 przez 10, 30 i 60 min. Kontrole stanowiły nasiona nietraktowane, nasiona moczone w wodzie przez 10, 30 i 60 min oraz nasiona zaprawiane fungicydem Zaprawa nasienna T75 DS/WS w dawce 5 g kg^{-1} nasion. Dla każdej kombinacji doświadczalnej wykonano analizę kiełkowania, wigoru i zdrowotności nasion. Oceny kiełkowania przeprowadzono według zaleceń Międzynarodowego Związku Oceny Nasion [3]. Po 5 i 10 dniach inkubacji określano odpowiednio energię i zdolność kiełkowania nasion, ponadto, po 10 dniach oceniano liczbę kiełków anormalnych, nasion martwych i nasion zdrowych niekiełkujących. Wigor badano określając szybkość i równomierność kiełkowania nasion. Do analizy zdrowotności nasion wykorzystano test bibułowy z przemrażaniem nasion. Zastosowane warianty traktowania nadtlentkiem wodoru na ogół efektywnie poprawiały zdolność kiełkowania nasion próby I. Pogorszenie tego parametru obserwowano jedynie u nasion próby II traktowanych 9% H_2O_2 przez 60 min. Zaprawianie nadtlentkiem wodoru negatywnie wpływało też na wigor nasion tej próby, szczególnie gdy stężenie H_2O_2 było większe niż 3% a czas traktowania dłuższy niż 30 min. U próby I natomiast ten negatywny efekt obserwowano tylko wtedy gdy nasiona traktowano 9% H_2O_2 przez 30 min. Na nasionach obu prób najczęściej występowały grzyby *Alternaria alternata* i *A. brassicicola*. Zastosowane traktowanie znacząco ograniczało zasiedlenie nasion przez te grzyby, zwłaszcza *A. brassicicola*. Skuteczność nadtlenu wodoru była niejednokrotnie wyższa niż standardowego fungicydu. Pozytywny efekt traktowania H_2O_2 na kiełkowanie i zdrowotność nasion, był bardziej widoczny w próbie I, charakteryzującej się wyższym początkowym zasiedleniem nasion przez grzyby, niż w próbie II. Otrzymane wyniki wskazują na możliwość wykorzystania H_2O_2 do traktowania nasion kapusty przeciwko patogenom grzybowym, konieczne jest jednak przeprowadzenie dalszych doświadczeń w warunkach polowych i w większej skali, dla potwierdzenia możliwości zastosowania tej alternatywnej metody traktowania w produkcji nasion kapusty.

Literatura

1. Szopińska D (2014) Effects of hydrogen peroxide treatment on the germination, vigour and health of *Zinnia elegans* seeds. *Folia Horti* 26: 19–29.
2. Szopińska D, Jarosz M, Sławińska B (2017) The effect of hydrogen peroxide on seed quality and emergence of carrot (*Daucus carota* L.). *Acta Sci Pol Hortorum Cultus* 16: 21–33.
3. International Rules for Seed Testing (2020). International Seed Testing Association. Bassersdorf, Switzerland.

The effect of hydrogen peroxide on germination, vigour and health of cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) seeds

Dorota Szopińska, Hanna Dorna, Juan Manuel Ley Lopez

Poznań University of Life Sciences, Department of Phytopathology, Seed Science and Technology, Dąbrowskiego 159, 60-594 Poznań

e-mail: dorota.szopinska@up.poznan.pl

The development of organic farming and decreasing number of available/allowed synthetic plant protection products resulted in an increased interest in alternative methods of seed treatment. The aim of the experiment was to determine the effect of hydrogen peroxide (H₂O₂), an organic compound characterized by strong antifungal activity [1], on germination, vigour and health of cabbage seeds. Two seed samples varying significantly in seed quality were tested; sample I was characterized by much lower germination capacity and higher seed infestation with fungi than sample II. Seeds were treated with 3%, 6% and 9% solutions of H₂O₂ for 10, 30 and 60 min. Controls were untreated seeds, seeds soaked in water for 10, 30 and 60 min, and seeds treated with fungicide Zaprawa nasienna T75 DS/WS in a dose of 5 g kg⁻¹ seeds. Germination, vigour and health analyses were conducted for each experimental combination. Evaluation of seed germination was performed according to the International Seed Testing Association rules [2]. Germination at the first and the final counts were determined after 5 and 10 days of incubation respectively, moreover, numbers of abnormal seedlings, dead seeds and fresh seeds were evaluated after 10 days. The seed vigour was studied by determining speed and uniformity of germination. For seed health analysis deep freeze blotter test was used. Applied variants of hydrogen peroxide seed treatments generally improved germination at the final count of sample I seeds. Deterioration of this parameter was observed only for sample II seeds treated with 9% H₂O₂ for 60 min. In this sample treatment with hydrogen peroxide also negatively affected seed vigour, especially if the concentration of H₂O₂ solutions was higher than 3% and treatment time was longer than 30 min. In sample I, on the other hand, this negative effect was observed only when seeds were treated with 9% H₂O₂ for 30 min. The fungi *Alternaria alternata* and *A. brassicicola* prevailed on the seeds of both samples. Applied treatments significantly limited seed infestation with these fungi, especially *A. brassicicola*. Effectiveness of hydrogen peroxide was frequently higher than standard fungicide. The beneficial effect of H₂O₂ treatment on seed germination and health was more visible in sample I, which was characterized by higher initial seed infestation with fungi. It may be suggested, on the base of obtained results that H₂O₂ could be potentially used for cabbage seed treatment against fungal pathogens; however, the bigger scale field experiments are necessary to confirm the possibility of application of this alternative method in the cabbage seed production.

References

1. Szopińska D (2014) Effects of hydrogen peroxide treatment on the germination, vigour and health of *Zinnia elegans* seeds. *Folia Horti* 26: 19–29.
2. Szopińska D, Jarosz M, Sławińska B (2017) The effect of hydrogen peroxide on seed quality and emergence of carrot (*Daucus carota* L.). *Acta Sci Pol Hortorum Cultus* 16: 21–33.
3. International Rules for Seed Testing (2020) International Seed Testing Association. Bassersdorf, Switzerland.

Grzyby zasiedlające nasiona soi – skutki ich występowania dla materiału siewnego i metody eliminacji

Hanna Olszak-Przybyś, Grażyna Korbecka-Glinka

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa- Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, ul. Czartoryskich 8, Puławy 24-100

e-mail: holszak@iung.pulawy.pl

Grzyby mogą zasiedlać nasiona soi w polu w czasie ich dojrzewania w strąkach lub po zbiorze, jak również podczas ich przechowywania w magazynach nasiennych. Pierwsza grupa patogenów, do której należą: *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Cercospora sojina*, *Cercospora kikuchii*, *Ascochyta* spp., stwarza duże zagrożenie dla kiełkujących nasion soi, korzeni oraz podstawy łodygi młodych siewek i dojrzałych roślin [1]. Patogeny te powodują m.in. zgorzel siewek, która ma bezpośredni wpływ na redukcję wschodów i jest jedną z głównych przyczyn spadku plonów. Z kolei tak zwane grzyby przechowalnicze, kolonizujące nasiona podczas ich przechowywania, obniżają jakość materiału siewnego, redukują zdolność kiełkowania i powodują niekorzystne zmiany w składzie chemicznym nasion. Ze względu na wysoką zawartość tłuszczu nasiona soi są szczególnie wrażliwe na obecność grzybów wytwarzających egzoenzymy lipolityczne, które powodują rozpad tłuszczu do glicerolu i wolnych kwasów tłuszczowych [2]. W efekcie dochodzi do wzrostu kwasowości tłuszczu w nasionach, co negatywnie wpływa na ich jakość. Ponadto grzyby bytujące na nasionach wytwarzają również enzymy, które powodują rozkład białek, przez co obniżają jakość materiału siewnego. Według Hartmann [1], ponad 150 różnych gatunków grzybów ma zdolność do bytowania na/w nasionach soi. Z pośród nich największe znaczenie ekonomiczne mają: *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Mucor* spp., *Penicillium* spp. i *Rhizopus* spp. Szacuje się, że grzyby te powodują w USA straty rzędu 20 milionów dolarów rocznie [1].

W celu zabezpieczenia roślin soi przed negatywnym oddziaływaniem grzybów przenoszonych za pośrednictwem nasion stosuje się między innymi zaprawianie fungicydowymi zaprawami nasiennymi (zawierającymi fludioksonil). Jednak chemiczne środki ochrony roślin stosowane w rolnictwie na szeroką skalę wpływają negatywnie na środowisko powodując jego zanieczyszczenie, spadek bioróżnorodności oraz śmiertelność organizmów, które nie są sprawcami chorób roślin uprawnych. Aby ograniczyć te problemy Komisja Europejska opracowała strategię „od pola do stołu” zakładającą m.in. 50% ograniczenie stosowania chemicznych pestycydów do 2030 roku. W ramach wdrażania tej strategii pożądane jest poszukiwanie alternatywnych metod eliminacji patogenów grzybowych z materiału siewnego.

W ostatnich latach opracowano szereg alternatywnych metod eliminacji patogenów grzybowych z nasion soi. Metody te mogą być oparte na zastosowaniu fizycznych czynników odkażających (np. promieniowanie UV), substancji naturalnego pochodzenia (biopolimery, ekstrakty roślinne lub olejki eteryczne) oraz biologicznych zapraw z organizmami antagonistycznymi (np. *Trichoderma asperellum* szczep T34-10). W prezentacji dokonany zostanie przegląd literatury na ten temat.

Literatura

1. Hartmann G.L., Rupe J.C., Sikora E. J., Domier L.L., Davis J.A., Steffey K.L. (2015). Compendium of Soybean Disease and Pests. ISBN 978-0-89054-473-0
2. Janda K., Ulfing K., Hury G., Markowska-Szczupak A. (2013). Zależności pomiędzy cechami jakościowymi nasion soi a ich zasiedlaniem przez grzyby. *Oilseed Crops* 34(1):95-102.

Soybean seed-borne fungi – effects of their occurrence on seed sowing material and methods of their elimination

Hanna Olszak-Przybyś¹, Grażyna Korbecka-Glinka¹

¹ Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa- Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, ul. Czarторыskich 8, Puławy 24-100

e-mail: holszak@iung.pulawy.pl

Fungi may colonize soybean seeds in the field, during their maturation in the pods, or after harvest, during their storage. First group of seed-borne fungi, including e.g. *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Cercospora sojina*, *Cercospora kikuchii*, *Ascochyta* spp., threaten germinating soybean seeds and roots or stem bases of seedlings and mature plants [1]. These pathogens cause seedling rot, which has a direct impact on reducing plant emergence and is one of the main causes of yield losses. On the other hand, so called storage fungi, colonising seeds during their storage, lower the quality of seed sowing material because they reduce germination percentage and lead to unfavourable changes in the chemical composition of the seeds. High fat content makes soybean seeds particularly vulnerable to activity of fungi producing lipolytic enzymes, which cause hydrolysis of fats to glycerol and free fat acids [2]. This leads to the increase of fat acidity in the seeds and lowering their quality. Moreover, seed-borne fungi produce also enzymes digesting proteins, thereby also reducing the quality of sowing material. According to Hartmann [1], over 150 different species of fungi can be found on/in soybean seeds. Among them, the most important from the economic point of view include: *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Mucor* spp., *Penicillium* spp. and *Rhizopus* spp. It is estimated that annual losses in USA, related to these fungi, equal approximately 20 million dollars [1].

In order to protect soybean plants from the negative impact of seed-borne fungi, seeds are commonly treated with fungicide dressings (containing fludioxonil). However, chemical pesticides, widely used in agriculture, have a negative impact on environment, cause its pollution, biodiversity loss and mortality of non-target organisms. In order to reduce these problems, European Commission developed a “farm to fork” strategy assuming 50% reduction of chemical pesticides use by 2030. Implementation of this strategy will require searching for alternative methods of elimination of seed-born fungi from the sowing material.

In recent years, a number of alternative methods of elimination of fungal pathogens from soybean seeds were developed. These methods can be based on the use of disinfecting physical factors (e.g. using UV radiation), substances of natural origin (biopolymers, plant extracts or essential oils) or biological dressings with antagonistic organisms (e.g. *Trichoderma* *Trichoderma asperellim* strain T34-10). The presentation summarized here will contain literature review on this topic.

References

1. Hartmann G.L., Rupe J.C., Sikora E. J., Domier L.L., Davis J.A., Steffey K.L. (2015). Compendium of Soybean Disease and Pests. ISBN 978-0-89054-473-0
2. Janda K., Ulfig K., Hury G., Markowska-Szczupak A. (2013). Zależności pomiędzy cechami jakościowymi nasion soi a ich zasiedlaniem przez grzyby. *Oilseed Crops* 34(1):95-102.

Badanie skuteczności wybranych ekstraktów roślinnych wobec grzybów z rodzaju *Neosartorya* z wykorzystaniem mikroplątek MT2 Biolog™ – intensywność oddechowa oraz przyrost biomasy

Wiktoria Maj, Giorgia Pertile, Magdalena Frąć

Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, Polska

e-mail: w.maj@ipan.lublin.pl

Chociaż mikroorganizmy z rodzaju *Neosartorya* nie są typowymi fitopatogenami roślin, to należą do grzybów strzępkowych, będących czynnikami powodującymi pogorszenie ich jakości i przyczyniają się do psucia produktów przetwarzanych termicznie w przemyśle spożywczym. Najbardziej narażone na działanie tych grzybów są owoce i produkty owocowe. Grzyby z rodzaju *Neosartorya* występują w glebie i materiale roślinnym, dlatego też do zanieczyszczenia produktu dochodzi w łatwy sposób. Ponadto, wykazują znaczną ciepłooporność, co umożliwia im przetrwanie, a nawet sporulację w produktach poddanych procesowi pasteryzacji. Zgodnie z najnowszymi założeniami UE dla sektora rolnego (np. Europejski Zielony Ład) zasadnicze znaczenie ma znalezienie nowatorskich rozwiązań, które są neutralne lub wykazują minimalny wpływ na środowisko naturalne. Na podstawie analizy wymienionych dokumentów strategicznych, literatury [1] oraz wstępnych badań skryningowych, do badań wytypowano kilka naturalnych ekstraktów roślinnych działających w niskich dawkach, które potencjalnie mogą być skuteczne w kontroli grzybów z rodzaju *Neosartorya*.

Celem przeprowadzonych badań było określenie wrażliwości grzybów z rodzaju *Neosartorya* na wybrane ekstrakty roślinne, w oparciu o wyniki badań przeprowadzonych z wykorzystaniem mikroplątek MT2 Biolog™. Badania obejmowały: suchy ekstrakt z nagietka lekarskiego, olejek z drzewa herbacianego, olejek lawendowy oraz olejek goździkowy. Wpływ ekstraktów roślinnych badany był w różnych stężeniach: 1 mg/ml; 150 µg/ml; 50 µg/ml; 5 µg/ml. W celu zbadania procesów metabolicznych grzybów z wykorzystaniem mikroplątek MT2 systemu Biolog™ [2] pomiary obejmowały odczyty absorbancji przy dwóch długościach fali 590 nm i 750 nm, odpowiadające odpowiednio intensywności oddechowej oraz intensywności wzrostu grzybów na testowanych ekstraktach suchych i olejach roślinnych. Odczyty dokonywane były w odstępach dobowych przez okres 10 dni inkubacji w temperaturze 30°C, po inokulacji mikroplątek zawiesiną grzybów o standardowej gęstości odpowiadającej 75% transmitancji. Przeprowadzone badania wykazały, że testowane izolaty z rodzaju *Neosartorya* różniły się wrażliwością na badane ekstrakty roślinne.

Badania zostały sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu Preludium Bis-2, 2020/39/O/NZ9/03421.

Literatura

1. Kalemba D, Kunicka A, (2003), Antibacterial and antifungal properties of essential oils, *Curr. Med. Chem.*, vol. 10, no. 10, pp. 813–829
2. Frąć M, Gryta A, Oszust K, Kotowicz N (2016) Fast and Accurate Microplate Method (Biolog MT2) for Detection of *Fusarium* Fungicides Resistance/Sensitivity. *Front. Microbiol.* 7:489

The research of the effectiveness of selected plant extracts against fungi of the *Neosartorya* genus using MT2 Biolog™ microplates – respiration intensity and biomass production

Wiktoria Maj, Giorgia Pertile, Magdalena Frąć

Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, Poland

e-mail: w.maj@ipan.lublin.pl, m.frac@ipan.lublin.pl

Although the microorganisms of the genus *Neosartorya* are not typical phytopathogens of plants, they are filamentous fungi which deteriorate their quality and contribute to the spoilage of thermally processed products in the food industry. Reportedly, the most susceptible to the fungi's influence are fruit and fruit-based products. Fungi belonging to the *Neosartorya* genus are present in soil and plant material, enabling easy contamination of the products. Moreover, it possesses substantial heat-resistance, enabling it survival, even sporulation in products treated with pasteurization process. According to the newest EU agricultural strategies (e.g. European Green Deal), it is principal to find novel solutions that have minimal to no effect on the natural environment. Based on these strategies and on the literature [1] search and related screening tests, several natural plant extracts were selected that can potentially be effective against fungi belonging to the *Neosartorya* genus.

The aim of the research was to determine the sensitivity of fungi of the genus *Neosartorya* to selected plant extracts, based on the results of studies carried out with the use of MT2 Biolog™ microplates. The research included: *Calendula officinalis* dry extract, tea tree oil, lavender oil and clove oil. The effect of plant extracts was tested in different concentrations: 1 mg/ml; 150 µg/ml; 50 µg/ml; 5 µg/ml. In order to study the metabolic processes of fungi with the use of MT2 microplates of the Biolog™ system [2], the measurements included absorbance readings at two wavelengths of 590 nm and 750 nm, corresponding to respiration intensity and fungal growth intensity, respectively, on the tested dry extracts and oils. Readings were taken at daily intervals for 10 days of incubation at 30°C, after inoculating the microplates with a suspension of fungi of standard density corresponding to 75% transmittance. The conducted research showed that the tested *Neosartorya* isolates differed in their sensitivity to the tested plant extracts.

The work was supported by the National Science Centre, Poland, Preludium Bis-2, 2020/39/O/NZ9/03421.

References

1. Kalembe D, Kunicka A, (2003), Antibacterial and antifungal properties of essential oils, *Curr. Med. Chem.*, vol. 10, no. 10, pp. 813–829
2. Frąć M, Gryta A, Oszust K, Kotowicz N (2016) Fast and Accurate Microplate Method (Biolog MT2) for Detection of *Fusarium* Fungicides Resistance/Sensitivity. *Front. Microbiol.* 7:489

Zastosowanie tytoniu w ochronie roślin

Anna Czubacka

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

e-mail: annacz@iung.pulawy.pl

Tytoń uprawny (*Nicotiana tabacum*) zawiera szereg metabolitów wtórnych takich jak: alkaloidy (w tym nikotynę), polifenole, terpenoidy, związki aromatyczne, fitosterole, alkohole tłuszczowe [1]. Ze względu na zawartość związków bioaktywnych może służyć do produkcji biopestycydów. Stwierdzono, że dzięki obecności terpenoidów ekstrakt tytoniowy powoduje całkowite zahamowanie wzrostu *Valsa mali* – patogena grzybowego atakującego jabłonie [2]. Ponadto chitynazy i glukozylazy wyizolowane z tytoniu powodują lizę strzępek *Fusarium solani*. Z kolei tytoniowe białko osmotyna znacząco ogranicza wzrost grzybów z rodzaju *Bipolaris*, *Fusarium*, *Phytophthora* i słabo hamuje wzrost *Rhizoctonia solani* i *Macrophomina phaseolina* [1]. Prowadzone są również badania nad owadobójczą aktywnością wyciągów z tytoniu. Ekstrakt tytoniowy okazał się skuteczny w likwidacji owocówki południoweczki (*Grapholita molesta*) – szkodnika upraw sadowniczych [3]. Preparat tytoniowy znacząco ograniczył także populację skośnika brzoskwiniaczka (*Anarsia lineatella*). Owadobójcza aktywność tytoniu wynika z obecności lektyn oraz nikotyny. Nikotyna wpływa na ośrodkowy układ nerwowy owadów oddziałując na receptory nikotynowe acetylocholino, podobnie jak syntetyczne insektycydy neonikotynoidowe [4]. Co ważne zastosowanie oprysków preparatami nikotynowymi nie szkodzi pszczołom, które są owadami tolerującymi nikotynę w swojej diecie.

Jeszcze wyższą zawartością nikotyny niż w tytoniu uprawnym, cechuje się uprawiana niegdys machorka (*Nicotiana rustica*). Z kolei ekstrakt z liści dzikiego gatunku *Nicotiana megalosiphon* zawierającego anabazynę działał zabójczo na larwy tantnisi krzyżowiaczka (*Plutella xylostella*) i ograniczał populację mszyc kapuścianej i brzoskwiniowo-ziemniaczanej [5].

Wysoka skuteczność testowanych preparatów z tytoniu w ochronie roślin przed grzybami i szkodnikami daje możliwość wykorzystania ich w rolnictwie. Należy jednak pamiętać, że narażenie na wysokie dawki nikotyny jest szkodliwe dla ludzi i zwierząt, ale niskie stężenia pozostają bezpieczne, a przy tym związek ten ulega szybkiej degradacji w środowisku [6,7].

Opracowanie przygotowano w ramach dotacji celowej MRiRW dla IHAR-PIB (zad. 1.2)

Literatura

1. Zou X et al. (2021) Current advances of functional phytochemicals in *Nicotiana* plant and related potential value of tobacco processing waste: A review, *Biomedicine & Pharmacotherapy* 143: 112191.
2. Duan S, Du Y, Hou X, Yan N, Dong W, Mao X, Zhang Z (2016) Chemical Basis of the Fungicidal Activity of Tobacco Extracts against *Valsa mali*, *Molecules*, 21: 1743.
3. Sarker S, Lim UT (2018) Extract of *Nicotiana tabacum* as a potential control agent of *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae), *PLoS ONE* 13(8): e0198302.
4. Du Rand EE, Pirk ChWW, Nicolson SW, Apostolides Z (2017) The metabolic fate of nectar nicotine in worker honey bees, *J Insect Physiol* 98 14–22.
5. Amoabenga BW, Stevenson PC, Pandeya S, Mochiahb MB, Gurre MG (2018) Insecticidal activity of a native Australian tobacco, *Nicotiana megalosiphon* Van Heurck & Muell. Arg. (Solanales: Solanaceae) against key insect pests of brassicas, *Crop Protection* 106 6–12.
6. Szymańska JA, Frydrych B, Bruchajzer E (2007) Nikotyna - dokumentacja dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego, *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy*, 2(52): 121-154.
7. Seckar JA i in. (2008) Environmental fate and effects of nicotine released during cigarette production, *Environ. Toxicol. Chem.*, 27(7): 1505–1514.

The use of tobacco in plant protection

Anna Czubacka

Institute of Soil Science and Plant Cultivation – State Research Institute, Department of Plant Breeding and Biotechnology, 8 Czartoryskich Street, 24-100 Puławy

e-mail: annacz@iung.pulawy.pl

Tobacco (*Nicotiana tabacum*) contains a number of secondary metabolites such as: alkaloids (including nicotine), polyphenols, terpenoids, aromatics, phytosterols, fatty alcohols [1]. Due to the content of bioactive compounds, it can be used for the production of biopesticides. It was found that due to the presence of terpenoids, tobacco extract completely inhibits the growth of *Valsa mali* - a fungal pathogen that attacks apple trees [2]. In addition, chitinases and glucanases isolated from tobacco cause the lysis of *Fusarium solani* hyphae. In turn, the tobacco protein osmotin significantly reduces the growth of fungi of the genus *Bipolaris*, *Fusarium*, *Phytophthora* and weakly inhibits the growth of *Rhizoctonia solani* and *Macrophomina phaseolina* [1]. There are also studies on the insecticidal activity of tobacco extracts. The tobacco extract turned out to be effective in eliminating the oriental fruit moth (*Grapholita molesta*) - a pest of fruit crops [3]. The tobacco preparation also significantly reduced the peach twig borer (*Anarsia lineatella*) population. The insecticidal activity of tobacco is due to the presence of lectins and nicotine. Nicotine affects the central nervous system of insects by affecting nicotinic acetylcholine receptors, similarly to synthetic neonicotinoid insecticides [4]. Importantly, the use of spraying with nicotine preparations does not harm bees, which are insects that tolerate nicotine in their diet.

Nicotiana rustica, cultivated in the past, has an even higher content of nicotine than cultivated tobacco. On the other hand, the leaf extract of the wild species *Nicotiana megalosiphon* containing anabazine had a lethal effect on the larvae of the diamondback moth (*Plutella xylostella*) and limited the population of cabbage and green peach aphids [5].

The high effectiveness of tobacco preparations in the protection of plants against fungi and pests makes it possible to use them in agriculture. However, it should be remembered that exposure to high doses of nicotine is harmful to humans and animals, but low concentrations remain safe, especially since the compound is rapidly degraded in the environment [6,7].

The study was prepared as part of a targeted grant of the Ministry of Agriculture for IHAR-PIB (task 1.2).

References

1. Zou X et al. (2021) Current advances of functional phytochemicals in *Nicotiana* plant and related potential value of tobacco processing waste: A review, *Biomedicine & Pharmacotherapy* 143: 112191.
2. Duan S, Du Y, Hou X, Yan N, Dong W, Mao X, Zhang Z (2016) Chemical Basis of the Fungicidal Activity of Tobacco Extracts against *Valsa mali*, *Molecules*, 21: 1743.
3. Sarker S, Lim UT (2018) Extract of *Nicotiana tabacum* as a potential control agent of *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae), *PLoS ONE* 13(8): e0198302.
4. Du Rand EE, Pirk ChWW, Nicolson SW, Apostolides Z (2017) The metabolic fate of nectar nicotine in worker honey bees, *J Insect Physiol* 98 14–22.
5. Amoabenga BW, Stevenson PC, Pandeya S, Mochiahb MB, Gurre MG (2018) Insecticidal activity of a native Australian tobacco, *Nicotiana megalosiphon* Van Heurck & Muell. Arg. (Solanales: Solanaceae) against key insect pests of brassicas, *Crop Protection* 106 6–12.
6. Szymańska JA, Frydrych B, Bruchajzer E (2007) Nicotine - Documentation of occupational exposure limits (in Polish), *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy*, 2(52): 121-154.
7. Seckar JA et al. (2008) Environmental fate and effects of nicotine released during cigarette production, *Environ. Toxicol. Chem.*, 27(7): 1505–1514.

Badania skringowe metabolizmu grzybów fitopatogenicznych *Botrytis cinerea* poddanych działaniu różnych stężeń octu drzewnego

Giorgia Pertile, Magdalena Frąć

Instytut Agrofizyki Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

e-mail: g.pertile@ipan.lublin.pl; m.frac@ipan.lublin.pl

Grzyby z gatunku *Botrytis cinerea* należą do jednych z ważniejszych gospodarczo fitopatogenów [1], ponieważ osiedlają się wewnątrz kwiatów i nie ujawniają swojej obecności aż do pojawienia się owoców [2], co prowadzi do możliwych strat ekonomicznych, związanych z utratą owoców przed ich sprzedażą na rynku. W ostatnich latach, w związku ze zmianami klimatycznymi, często występują okresy silnej suszy i obfitych opadów, co stwarza bardzo korzystne warunki do rozwoju grzybów powodujących choroby roślin. Ocet drzewny (łac. *acetum pyro-lignosum*) jest naturalną substancją otrzymywaną w procesie destylacji pirolitycznej drewna. W wielu badaniach opisywano właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze tej substancji [3], a w niektórych artykułach naukowych testowano ją przeciwko innym grzybom (takim jak *Alternaria mali*, *Trametes versicolor*, *Aspergillus niger* i *A. fumigatus*) [4-5].

Celem przeprowadzonych badań była analiza metaboliczna, obejmująca intensywność respiracyjną i przyrost biomasy trzech szczepów grzybów z gatunku *B. cinerea* hodowanych w mikroplatkach MT2 Biolog™ [6-7] na podłożu z dodatkiem różnych stężeń octu drzewnego.

Przeprowadzone badania wykazały, że ocet drzewny powodował zmiany aktywności oddechowej i przyrostu biomasy izolatów *B. cinerea* w zależności od zastosowanego stężenia oraz wykazywał hamujące działanie na wzrost testowanych grzybów.

Badania współfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach programu Miniatura-5, numer umowy DEC-2021/05/X/NZ9/01672 i Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu BIOSTRATEG, numer umowy BIOSTRATEG3/344433/16/NCBR/2018

Literatura

1. Dean R, Van Kan JAL, Pretorius ZA, Hammod-Kosack KE, Di Pietro A, Spanu PD, Rudd JJ, Dickman M, Kahmann R, Ellis J, et al. (2012) The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol* 13.
2. Rigotti S, Gindro K, Richter H, Viret O (2002) Characterization of molecular markers for specific and sensitive detection of *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. in strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) using PCR. *FEMS Microbiol Lett* 209: 169–174.
3. Grewal A, Abbey L, Rao Gunupuru L (2018) Production, prospects and potential application of pyroligneous acid in agriculture. *J Anal Appl Pyrolysis* 135: 152-159.
4. Jung K-H (2007) Growth inhibition effect of pyroligneous acid on pathogenic fungus, *Alternaria mali*, the agent of *Alternaria* blotch of apple. *Biotechnol Bioprocess Eng* 12: 318-322.
5. Suresh G, Pakdel H, Rouissi T, Kaur Brar S, Fliss I, Roy C (2019) In vitro evaluation of antimicrobial efficacy of pyroligneous acid from softwood mixture. *Biotechnol Res Innov* 3: 47-53.
6. Taha M, Kadali KK, Al-Hothaly K, Smith AT, Ball AS, Adetutu EM (2015) An effective microplate method (Biolog MT2) for screening native lignocellulosic-straw-degrading bacteria. *Ann Microbiol* 65: 2053-2064.
7. Frąć M, Gryta A, Oszust K, Kotowicz N (2016) Fast and accurate microplate method (Biolog MT2) for detection of *Fusarium fungicides* resistance/sensitivity. *Front Microbiol* 7.

Screening at the metabolism level of the phytopathogenic fungi *Botrytis cinerea* exposed to different concentration of pyroligneous acid

Giorgia Pertile, Magdalena Frąć

Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

e-mail: g.pertile@ipan.lublin.pl; m.frac@ipan.lublin.pl

Botrytis cinerea is considered to be the one of the most important phytopathogenic fungi [1] because it settles inside the flowers and does not manifest its presence until the fruit appears [2], leading to a possible economical loss of the product before it is sold on the market. In recent years, there have been frequent periods of severe drought and heavy rainfall due to climate changes, leading to very favourable conditions for the growth of phytopathogenic fungi. The pyroligneous acid (lat. *acetum pyro-lignosum*) is a natural substance obtained by distilling the pyrolytic process of wood. Many studies have described the antibacterial or antifungal properties of this substance [3], and some scientific articles have tested this substance against other fungi (such as *Alternaria mali*, *Trametes versicolor*, *Aspergillus niger*, and *A. fumigatus*) [4-5].

The aim of the research was metabolic analysis, including respiration intensity and biomass growth of three fungal strains of *B. cinerea* grown in MT2 Biolog™ [6-7] microplates on a medium with various concentrations of pyroligneous acid.

The conducted research showed that pyroligneous acid caused changes in respiratory activity and biomass growth of *B. cinerea* isolates depending on the concentration used, and showed an inhibitory effect on the growth of the tested fungi.

This work was co-supported by The National Science within the framework of the Miniatura-5, contract number DEC-2021/05/X/NZ9/01672 and The National Centre for Research and Development, the BIOSTRATEG programme, contract number BIOSTRATEG3/344433/16/NCBR/2018

References

1. Dean R, Van Kan JAL, Pretorius ZA, Hammod-Kosack KE, Di Pietro A, Spanu PD, Rudd JJ, Dickman M, Kahmann R, Ellis J, et al. (2012) The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol* 13.
2. Rigotti S, Gindro K, Richter H, Viret O (2002) Characterization of molecular markers for specific and sensitive detection of *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. in strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) using PCR. *FEMS Microbiol Lett* 209: 169–174.
3. Grewal A, Abbey L, Rao Gunupuru L (2018) Production, prospects and potential application of pyroligneous acid in agriculture. *J Anal Appl Pyrolysis* 135: 152-159.
4. Jung K-H (2007) Growth inhibition effect of pyroligneous acid on pathogenic fungus, *Alternaria mali*, the agent of Alternaria blotch of apple. *Biotechnol Bioprocess Eng* 12: 318-322.
5. Suresh G, Pakdel H, Rouissi T, Kaur Brar S, Fliss I, Roy C (2019) In vitro evaluation of antimicrobial efficacy of pyroligneous acid from softwood mixture. *Biotechnol Res Innov* 3: 47-53.
6. Taha M, Kadali KK, Al-Hothaly K, Smith AT, Ball AS, Adetutu EM (2015) An effective microplate method (Biolog MT2) for screening native lignocellulosic-straw-degrading bacteria. *Ann Microbiol* 65: 2053-2064.
7. Frąć M, Gryta A, Oszust K, Kotowicz N (2016) Fast and accurate microplate method (Biolog MT2) for detection of *Fusarium* fungicides resistance/sensitivity. *Front Microbiol* 7.

Wpływ bakterii *Bacillus amyloliquefaciens* i *Bacillus subtilis* na wzrost w warunkach *in vitro* patogenów występujących w uprawie rzepaku

Andrzej Brachaczek¹, Joanna Kaczmarek²

¹ Innvigo sp z o.o., Al. Jerozolimskie 178, 02-486 Warszawa

² Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, ul. Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

e-mail: andrzej.brachaczek@innvigo.com

Porażenie upraw patogenami wiąże się z wystąpieniem różnych chorób roślin, wpływających negatywnie na plon i jego jakość. W przypadku rzepaku do jego najistotniejszych patogenów należy zaliczyć: *Plenodomus lingam* (sucha zgnilizna kapustnych), *Sclerotinia sclerotiorum* (zgnilizna twardzikowa), *Plasmodiophora brassicae* (kiła kapusty), *Verticillium longisporum* (werticilioza) oraz *Fusarium* spp. (zgorzel siewek). Są one przyczyną chorób o istotnym znaczeniu ekonomicznym, ponieważ straty, jakie powodują w plonach mogą sięgać nawet kilkudziesięciu procent. Rozwój patogenów porażających rzepak można obserwować przez cały okres wegetacji. Choroby przez nie powodowane można ograniczać na wiele sposobów, między innymi poprzez dobór prawidłowej agrotechniki, odmian oraz odpowiedniej ochrony. Nowe uregulowania prawne wskazujące na konieczność stosowania integrowanej ochrony roślin przez wszystkich profesjonalnych użytkowników środków ochrony roślin oraz wzrastające wymagania konsumentów, skłaniają do poszukiwania alternatywnych metod ochrony, w tym metod biologicznych z wykorzystaniem bakterii.

Celem badań była ocena antagonistycznych właściwości bakterii *Bacillus amyloliquefaciens* DW1A i *Bacillus subtilis* DW2S zawartych w preparacie Bakto G-Stop wobec patogenów rzepaku ozimego. Do testów wybrano izolaty *P. lingam*, *S. sclerotiorum*, *V. longisporum* i *F. culmorum*.

Wzrost izolatów badano na pożywce glukozowo-ziemniaczanej umieszczonej w płytkach Petriego o średnicy 90 mm. Do sterylnej pożywki o temperaturze nie wyższej niż 45°C dodawano roztwór wodny preparatu pozwalający uzyskać stężenie równe: 1, 10 i 30 ppm. Kombinację kontrolną stanowiła pożywka bez dodatku Bakto-G- Stop.

Wyniki z dwóch niezależnych serii biotestu wykazały, że bakterie *Bacillus amyloliquefaciens* i *B. subtilis* (1:1) hamowały wzrost wszystkich badanych izolatów. Siła inhibicja była wprost proporcjonalnie zależna od zastosowanego stężenia. Aktywność fungistatyczna wyrażona jako współczynnik zahamowania tempa wzrostu patogena wynosiła od 89 do 94,7% przy stężeniu 30 ppm.

Uzyskane wyniki są obecnie weryfikowane w warunkach polowych pod względem terminu ich najskuteczniej aplikacji (zabieg doglebowy przedsiwiny, jako zaprawa nasienna oraz w następujących fazach: BBCH 10-12, w fazie BBCH 13-19, BBCH 30-32, BBCH 60-63). Pozwoli to na ustalenie optymalnego terminu zabiegu pozwalającego uzyskać maksymalną ochronę przeciw patogenom rzepaku za pomocą środka Bakto G-Stop.

The effect of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus subtilis* on in vitro growth of oilseed rape pathogens

Andrzej Brachaczek¹, Joanna Kaczmarek²

1 Innvigo Ltd., Al. Jerozolimskie 178, 02-486 Warszawa

2 Institute of Plant Genetics, Polish Academy of Sciences, Strzeszynska 34, 60-479 Poznan

e-mail: andrzej.brachaczek@innvigo.com

Pathogens infestation of crops is associated with the occurrence of various plant diseases, negatively affecting yield and its quality. In case of oilseed rape, the most significant pathogens are: *Plenodomus lingam* (phoma leaf spot/stem canker), *Sclerotinia sclerotiorum* (sclerotinia stem rot), *Plasmodiophora brassicae* (clubroot), *Verticilium longisporum* (Verticilium wilt) and *Fusarium* spp. (Fusarium wilt). They cause the economically important diseases with yield losses up to several dozen percent. The development of pathogens affecting oilseed rape can be observed throughout the whole vegetation period. The diseases they caused can be reduce in many ways, such as by agrotechnical methods, choosing resistant varieties and plant protection. New regulations indicating the necessity of applying integrated plant management rules by all professional users as well as increasing consumers' requirements, induce to search for alternative protection methods, including biological control agents.

The aim of this study was to evaluate antagonistic properties of *Bacillus amyloliquefaciens* DW1A and *Bacillus subtilis* DW2S (Bakto G-Stop) against winter oilseed rape pathogens. The isolates selected for testing were *P. lingam*, *S. sclerotiorum*, *V. longisporum* and *F. culmorum*.

The growth of the isolates was tested on Potato Dextrose Agar medium placed in 90 mm diameter Petri dishes. An aqueous solution of the preparation was added to the sterile medium at about 45°C to obtain concentrations of: 1, 10 and 30 ppm. As a control a medium without Bakto-G- Stop was used.

Results from two independent bioassays showed that *Bacillus amyloliquefaciens* and *B. subtilis* (1:1) inhibited the growth of all tested isolates. Inhibition was directly dependent on their concentration. The fungistatic activity expressed as the rate of inhibition of the pathogen growth rate ranged from 89 to 94.7% at a concentration of 30 ppm.

This results are currently verified under field conditions with respect to the time of their most effective application (pre-sowing soil treatment as a seed treatment and in the following phases BBCH 10-12, in the BBCH 13-19 phase, BBCH 30-32, BBCH 60-63). It will allow determination of the optimal treatment timing to achieve maximum protection against oilseed pathogens with Bakto G-Stop.

Reakcja *Microcyclosporella mali* sprawcy brudnej plamistości jabłek na olejki eteryczne

Ewa Mirzwa-Mróż¹, Anna Wilkos¹, Wojciech Wakuliński¹, Elżbieta Paduch-Cichał¹, Katarzyna Bączek², Olga Kosakowska², Zenon Węglarz²

¹Zakład Fitopatologii, Katedra Ochrony Roślin, Instytut Nauk Ogrodniczych, SGGW w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

²Katedra Roślin Warzywnych i leczniczych, Instytut Nauk Ogrodniczych, SGGW w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

e-mail: wilkosia98@gmail.com

Bрудna plamistość jabłek jest chorobą powodowaną przez kompleks grzybów. Występuje powszechnie w regionach uprawy jabłoni na całym świecie, szczególnie w sadach z ograniczoną możliwością stosowania ochrony chemicznej, m.in. sadach ekologicznych [1]. Od momentu przystąpienia Polski do Unii Europejskiej systematycznie spada liczba zarejestrowanych na rynku środków ochrony roślin, przy jednoczesnym wzroście zainteresowania konsumentów związkami pochodzenia naturalnego, mogącymi zastąpić syntetyczne pestycydy [2]. Szczególną uwagę poświęca się olejkom eterycznym i ich możliwemu zastosowaniu w ochronie roślin [3]. Celem pracy było pozyskanie olejków eterycznych z oregano greckiego, tymianku właściwego i wrotyczu balsamicznego oraz zbadanie reakcji wybranych izolatów *M. mali* na działanie tych olejków. Rośliny zebrane zostały w fazie kwitnienia, a następnie wydestylowano z nich olejek eteryczny przy użyciu aparatu Derynga. Analizę składu olejków przeprowadzono metodą chromatografii gazowej (GC/FID, GC/MS) przy użyciu chromatografu Hewlett Packard 6890, wyposażonego w detektor płomieniowo-jonizacyjny FID i polarną, kapilarną kolumnę. Izolaty grzyba wyszczepiono na pożywki agarowe (PDA, SNA, PCA, WA). Wyznaczono wartość minimalnego stężenia hamującego (MIC) dla każdego z olejków, a następnie olejki w określonych stężeniach dodawano do pożywki PDA i badano rozwój grzyba *M. mali*. Na podstawie analizy składu chemicznego trzech olejków stwierdzono dominację jednej grupy związków w każdym z nich oraz wskazano, że w olejkach oregano i tymiankowym dominowały dwa związki, a w olejku wrotyczowym jeden. Wartość MIC ustalona dla każdego z izolatów była podobna. Najskuteczniejszym działaniem cechował się olejek tymiankowy, a naj słabszym – wrotyczowy.

Literatura

1. Mirzwa-Mróż E. 2013. Identyfikacja i biologia sprawców brudnej plamistości jabłek. Wieś Jutra Sp. z o.o. Warszawa, str. 9-25.
2. Dutka A. 2013. Application of essential oils in plant protection against pest insects – paper review. Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin 53 (1): 36-42.
3. Sadowska K., Łukaszewska-Skrzypniak N., Wojczyńska J., Stępniewska-Jarosz S., Tyrakowska M., Rataj-Guranowska M. 2017. Evaluation of susceptibility of potential rape pathogens to selected essential oils. Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin 57 (3): 201-205.

Reaction of *Microcyclosporella mali*-the causal agent of sooty blotch on apple to essential oils

Ewa Mirzwa-Mróż¹, Anna Wilkos¹, Wojciech Wakuliński¹, Elżbieta Paduch-Cichał¹, Katarzyna Bączek², Olga Kosakowska², Zenon Węglarz²

¹Div. Plant Pathology, Department of Plant Protection, Institute of Horticultural Sciences, Warsaw University of Life Sciences – SGGW, Nowoursynowska Street 159, 02-776 Warsaw, Poland

² Department of Vegetable and Medicinal Plants, Institute of Horticultural Sciences, Warsaw University of Life Sciences – SGGW, Nowoursynowska Street 159, 02-776 Warsaw, Poland

e-mail: wilkosia98@gmail.com

Apple sooty blotch is a disease caused by a fungal complex. It is common in apple growing regions around the world, especially in orchards with limited chemical protection e.g. ecological orchards [1]. Since Poland's accession to the European Union, the number of plant protection products registered on the market has been systematically declining, with a simultaneous increase in consumer interest in compounds of natural origin that can replace synthetic pesticides [2]. Particular attention is paid to essential oils and their possible use in plant protection [3]. The aim of the study was to obtain essential oils from Greek oregano, thyme and balsamic tansy, and to examine the reaction of selected *M. mali* isolates to these oils. Plants were harvested in the flowering stage and then essential oil was distilled using Deryng's apparatus. Oil composition analysis was performed by gas chromatography (GC / FID, GC / MS) using a Hewlett Packard 6890 chromatograph equipped with a FID flame ionization detector and a polar capillary column. Selected fungal isolates were transferred onto the media (PDA, SNA, PCA, WA). The value of the minimum inhibitory concentration (MIC) for each of oils was determined. Then the oils with specified concentrations were added to the PDA medium to examine the growth of *M. mali* isolates. Based on the analysis of the chemical composition of three oils, it was found that one group of compounds was dominant in each of them, and it was indicated that two compounds dominated in oregano and thyme oils, and one in tansy oil. The MIC value established for each isolate was similar. Thyme oil was the most effective, and tansy oil was the weakest.

References

1. Mirzwa-Mróż E. 2013. Identyfikacja i biologia sprawców brudnej plamistości jabłek. *Więś Jutra Sp. z o.o.* Warszawa, pp. 9-25.
2. Dutka A. 2013. Application of essential oils in plant protection against pest insects – paper review. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 53 (1): 36-42.
3. Sadowska K., Łukaszewska-Skrzypniak N., Wojczyńska J., Stępniewska-Jarosz S., Tyrakowska M., Rataj-Guranowska M. 2017. Evaluation of susceptibility of potential rape pathogens to selected essential oils. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 57 (3): 201-205.

Wpływ inokulantu Rhizobium i fungicydu stosowanego do nasion na aparat symbiotyczny soi w warunkach suszy jako rozwiązanie biotechnologiczne w warunkach zmiany klimatu

Tetiana Mamenko^{1,2}, Edyta Kiedrzyńska^{2,3}

^{1,2}Instytut Fizjologii Roślin i Genetyki Narodowej Akademii Nauk Ukrainy, Kijów, Ukraina

² Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii Polskiej Akademii Nauk, Łódź, Polska

³ Katedra Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

e-mail: t.mamenko@erce.unesco.lodz.pl

Strategicznie ważnymi zagadnieniami są dziś optymalizacja wykorzystania naturalnych zasobów wodnych oraz struktura gruntów rolnych. Susza jest głównym stresorem abiotycznym, który znacząco wpływa na plony i jakość upraw w wielu częściach świata, zagrażając bezpieczeństwu żywnościowemu [1]. Dlatego badanie odporności roślin na stres powodowany suszą jest jednym z priorytetowych obszarów badań na całym świecie. Ze względu na globalne zmiany klimatyczne [2] istotne jest zbadanie możliwości zastosowania zaprawiania nasion soi fungicydami i inokulantami ryzobium do rozwoju krzyżowej adaptacji roślin do suszy. Zwiększenie potencjału wiązania azotu roślin strączkowych w symbiozie z bakteriami brodawkowymi przy stosowaniu środków ochrony roślin o charakterze grzybobójczym może być alternatywnym rozwiązaniem zapewniającym roślinom przyjazny dla środowiska azot i jednocześnie zwiększający ich tolerancję na stresory. W tym celu stworzono modelowe ekosystemy na różnych etapach powstawania i funkcjonowania symbiozy roślin strączkowych z roślinami motylkowymi, gdzie przed siewem nasion soi zaprawiano fungicydem (fludioksonil, 25 g/L) i inokulowano aktywną ryzobią (*Bradyrhizobium japonicum* B1-20) zarówno w warunkach kontrolowanych, jak i terenie. Wykazano, że zaprawianie nasion fungicydem i inokulantem ryzobialnym przyczynia się do przywrócenia funkcjonowania symbiotycznego aparatu w osobnikach soi. Zachodzi to po okresie występowania suszy, we wczesnych stadiach powstawania symbiozy roślin strączkowa-ryzobium i zachodzi poprzez zwiększenie wydajności azotu cząsteczkowego i jego utrwalenie na jednostkę masy guzków. Pozytywny wpływ tej metody zaprawiania nasion na funkcjonowanie symbiozy roślin strączkowych z roślinami motylkowymi jest ważny, a szczególnie w okresie aktywnego wiązania brodawek azotu cząsteczkowego, o czym świadczy zachowanie potencjału wiązania azotu przez osobniki soi w okresie suszy i po stresie. Wykazano, że przedsiewne zaprawianie nasion fludioksonilem (25 g/L) oraz nokulacja aktywną ryzobią (*B. japonicum* B1-20) może być stosowana w uprawie polowej soi w celu przedłużenia efektywności aparatu symbiotycznego w uprawie generatywnej i okresie reprodukcyjnej rozwoju roślin. Zapewniło to znaczny wzrost wydajności ziarna. Dlatego zastosowanie metody zaprawiania nasion jest skutecznym rozwiązaniem poprawiającym wiązanie azotu roślin soi, zwiększając ich potencjał adaptacyjny i odporność na stres w warunkach suszy, co może przyczynić się do poprawy bezpieczeństwa żywnościowego.

Literatura

1. FAO. 2021. Wpływ katastrof i kryzysów na rolnictwo i bezpieczeństwo żywnościowe: 2021. Rzym. Włochy
2. IPCC, 2022. Wpływ zmian klimatu 2022, adaptacja i podatność. Szwajcaria

Rhizobium inoculant and seed-applied fungicide effects on the soybean symbiotic apparatus under drought as a biotechnology solution in the climate change conditions

Tetiana Mamenko^{1,2}, Edyta Kiedrzyńska^{2,3}

^{1,2}Institute of Plant Physiology and Genetics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

²European Regional Centre for Ecohydrology of the Polish Academy of Sciences, Lodz, Poland

³ UNESCO Chair Ecohydrology and Applied Ecology, Faculty of Biology and Environmental Protection University of Lodz

e-mail: t.mamenko@erce.unesco.lodz.pl

Strategically important issues today are the optimization of the use of natural water resources and the structure of agricultural lands. Drought is a major abiotic stressor that significantly affects crop yields and quality in many parts of the world, threatening food security [1]. Therefore, the study of plant stress resistance to drought is one of the priority areas of research around the world. Due to global climate change [2], it is relevant to examine the possibility of using soybean seed treatment with fungicides and rhizobia inoculants to develop cross-adaptation of plants to drought. Increasing the nitrogen-fixing potential of legumes in symbiosis with nodule bacteria when using plant protection products of fungicidal nature may be an alternative solution to provide plants with environmentally friendly nitrogen and at the same time increase their tolerance to stressors. For this purpose, model ecosystems were created at different stages of legume-rhizobial symbiosis formation and functioning, where before soybean seeds sowing was treated with fungicide (fludioxonil, 25 g/L) and inoculated with active rhizobia (*Bradyrhizobium japonicum* B1-20) under controlled conditions and in the field. It has been established that seed treatment with a fungicide and a rhizobial inoculant contributes to the restoration of the functioning of the symbiotic soybean apparatus after the action of drought in the early stages of the formation of legume-rhizobium symbiosis by increasing the efficiency of molecular nitrogen fixation per unit mass of nodules. The positive effect of this method of seed treatment on the functioning of legume-rhizobial symbiosis during the period of active fixation of molecular nitrogen nodules, as evidenced by the preservation of nitrogen-fixing potential of soybeans in drought and after stress. It is proved that pre-sowing treatment of seeds with fludioxonil (25 g/L) and inoculation with active rhizobia (*B. japonicum* B1-20) can be used in soybean cultivation in the field to prolong the effectiveness of the symbiotic apparatus in generative and reproductive periods of plant development. This provided a significant increase in grain productivity. Therefore, the use of this method of seed treatment is an effective solution for improving the nitrogen-fixing activity of soybean plants, increasing their adaptive potential and stress resistance in drought conditions which can contribute to improving food security.

References

1. FAO. 2021. The impact of disasters and crises on agriculture and food security: 2021. Rome.
2. IPCC, 2022. Climate Change 2022 Impacts, Adaptation and Vulnerability. Switzerland.

Wpływ nowej pochodnej benzotiadiazolu na wzrost i rozwój tulipana oraz ograniczenie fuzariozy

Anna Jarecka-Boncela¹, Magdalena Ptaszek¹, Rafał Kukawka^{2,3}, Agnieszka Włodarek¹, Maciej Spychalski², Marcin Śmiglak^{2,3}

¹Institut Ogrodnictwa, Zakład Ochrony Roślin, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

²Poznański Park Naukowo-Technologiczny Fundacji Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, ul. Rubież 46, 61-612 Poznań

³Innosil Sp. z o.o., ul. Rubież 46, 61-612 Poznań

e-mail: anna.jarecka@inhort.pl

Zjawisko systemicznej indukcji odporności nabytej (z ang. Systemic Acquired Resistance, SAR), może stać się jedną ze skutecznych metod ochrony roślin. Wynika to z faktu iż, każda roślina posiada „układ immunologiczny”, którego pobudzenie w wielu wypadkach wystarczy, aby sama mogła zwalczyć atakujący ją patogen. W naturalnych warunkach system odpornościowy roślin pobudzany jest przez atak patogena, a następnie poprzez aktywację odpowiednich szlaków odpornościowych. W ciągu kilku dni układ ten jest gotowy odeprzeć atak patogena. W prowadzonych doświadczeniach badano wpływ substancji aktywnej BTHWA, będącej pochodną benzotiadiazolu, która posiada aktywność związaną ze stymulacją wzrostu i rozwoju roślin oraz indukcją systemicznej odporności nabytej pozwalającej na ograniczenie fuzariozy tulipana, jednej z najgroźniejszych chorób tej rośliny. Sprawcą choroby jest grzyb *Fusarium oxysporum* forma specjalna (f. sp.) *tulipea*. Choroba ta stanowi główny problem podczas przechowywania cebul, uprawach reprodukcyjnych, nasadzeniach zieleni miejskiej i ogrodach.

Doświadczenia przeprowadzono w latach 2020-2021 w szklarni Instytutu Ogrodnictwa-PIB. Obejmowało ono 4 kombinacje wykonane w dwóch seriach.

Zastosowanie substancji aktywnej BTHWA w bardzo wysokim stopniu ograniczyło rozwój fuzariozy na cebulach tulipana. Zastosowany w dwóch stężeniach 0,2% i 0,4%, do podlewania roślin, zahamował rozwój choroby w około 85%. Ponadto, zastosowanie substancji BTHWA korzystnie wpłynęło na wysokość roślin i rozwój systemu korzeniowego. Średnia wysokość roślin po zastosowaniu badanej substancji w stężeniu 0,4% wynosiła 503 mm natomiast w kombinacji kontrolnej 284 mm. Również świeża i sucha masa systemu korzeniowego roślin traktowanych BTHWA była wyższa, niż roślin w kombinacji kontrolnej.

Projekt „Nowe induktory odporności roślin oraz ich zastosowanie jako innowacyjne podejście do ochrony roślin przed patogenami” który jest realizowany w ramach programu Team Tech (POIR.04/04.00-00-5BD9/17-00) Fundacji na rzecz Nauki Polskiej współfinansowanego przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego.

Effect of new derivative benzotriazole on tulip growth and development as well as reduction of fusariosis

Anna Jarecka-Boncela¹, Magdalena Ptaszek¹, Rafał Kukawka², Agnieszka Włodarek¹, Maciej Szychalski², Marcin Śmiglak²

¹The National Research Institute of Horticultural Research, Skierniewice

²Poznan Science and Technology Park of Adam Mickiewicz University Foundation, Poznań,

³Innosil Sp. z o.o., Poznań Poland

e-mail: anna.jarecka@inhort.pl

The phenomenon of Systemic Acquired Resistance (SAR) may become one of the effective methods of plant protection. This is due to the fact that every plant has an "immune system", the stimulation of which in many cases is sufficient for the plant to be able to control an attacking pathogen by itself. In natural conditions, the plant immune system is stimulated by an attack of a pathogen and then by activation of the relevant immune pathways. Within a few days this system is ready to repel the pathogen attack. In conducted experiments, the effect of the active substance BTHWA, which is a derivative of benzotriazole, having activity of stimulation of plant growth development as well as induction of systemic acquired resistance allowing to reduce tulip fusariosis, one of the most dangerous diseases of this plant, was tested. The disease is caused by the fungus *Fusarium oxysporum* special form (f. sp.) *tulipea*. The disease is a major problem during bulb storage, in forcing, reproductive cultivation, urban greenery plantings and gardens.

The experiment was conducted in the years 2020-2021 in the greenhouse of the National Institute of Horticultural Research in Skierniewice. The study involved 4 variants of treatment and was performed in two series.

The use of active substance BTHWA significantly limited the development of fusariosis on tulip bulbs. The substance, used in two different concentrations 0.2% and 0.4% to irrigate plants, inhibited the development of the disease in approximately 85%. Moreover, BTHWA positively influenced the height of the plants and development of the root system. The average height of plants treated with BTHWA (in concentration of 0.4%) was 503 mm, while in the untreated control - 284 mm. Also, the fresh and dry mass of the root system of plants treated with BTHWA was higher than that of plants in the untreated control.

The "New plant resistance inducers and their application as innovative approach to plant protection against pathogens" project is carried out within the TEAMTECH (POIR.04/04.00-00-5BD9/17-00) programme of the Foundation for Polish Science co-financed by the European Union under the European Regional Development Fund.

Biologiczne i agrotechniczne metody ograniczania wirusa mozaiki tytoniu w uprawie *Nicotiana tabacum* L.

Anna Trojak-Goluch

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin, ul. Czarторыskich 8, 24-100 Puławy

e-mail: anngol@iung.pulawy.pl

W ostatnim czasie w Polsce wraz z wyraźnym ocieplaniem się klimatu, obserwuje się nasilenie wielu chorób wirusowych, w tym mozaiki tytoniu stanowiącej do niedawna problem głównie w strefie klimatów podzwrotnikowych. Choroba objawia się uszkodzeniami liści w postaci mozaikowych przebarwień oraz karłowatością roślin. Sprawcą choroby jest *Tobacco mosaic virus* (TMV) jeden z najbardziej rozpowszechnionych i agresywnych wirusów roślinnych, który powoduje znaczące straty w uprawie tytoniu na świecie (1). Wysoki wskaźnik porażenia przez TMV jest spowodowany dużą trwałością i łatwością rozprzestrzeniania się wirusa. Należy przypuszczać, że w najbliższym czasie mozaika tytoniowa stanie się jednym z ważniejszych problemów w uprawie tytoniu w Polsce.

W ograniczaniu występowania TMV wykorzystuje się metody agrotechniczne wśród których duże znaczenie ma stosowanie wysokiej jakości materiału siewnego pozbawionego zanieczyszczeń, a zwłaszcza resztek tkanek roślinnych, które stanowią źródło zakażenia TMV. Ważną rolę odgrywa czyszczenie i odkażanie narzędzi rolniczych po każdym zabiegu oraz zachowanie standardów fitosanitarnych zarówno w rozsadniku jak i na polu. Duże znaczenie ma także stosowanie preparatów przyspieszających rozkład resztek roślinnych będących rezerwuarem wirusa (2). Zaleca się stosowanie racjonalnego zmianowania, aż do całkowitego rozkładu martwej tkanki tytoniu. W ograniczaniu nasilenia TMV w tytoniu coraz częściej wykorzystywane są mikroorganizmy antagonistyczne w stosunku do wirusa. Traktowanie gleby i sadzonek roztworem *Pseudomonas putida* A3-m 5×10^8 CFU/ml istotnie ograniczyło ilość TMV w glebie i nasilenie choroby (3). Wykazano również, że stosowanie flawonoidów takich jak kwercetyna i witeksyna zmniejsza ilość zmian chorobowych wywołanych przez TMV (4). Najskuteczniejszą formą ochrony biologicznej przed TMV jest hodowla i uprawa odmian odpornych. Dotychczas w hodowli najczęściej wykorzystywano dziki gatunek *Nicotiana glutinosa* wykazujący odporność typu nadwrażliwości (HR) (5). Na bazie odporności pochodzącej od *N. glutinosa* wyhodowano odmiany w typie Burley (6), jak również Virginia (Berbeć 2019).

Literatura

1. Melton T, Gutierrez W, Broadwell A, Wilson J (2000) Plant pathology department extension research flue-cured tobacco disease report. North Carolina Cooperative Extension Service, Raleigh, USA.
2. Berbeć A (2017) Mozaika tytoniu – aktualne znaczenie choroby i sposoby jej zwalczania. Przegląd Tytoniowy 1: 8–11.
3. Abo-Zaid GA, Matar SM, Abdelkhalek A (2020) Induction of Plant Resistance against Tobacco Mosaic Virus Using the Biocontrol Agent *Streptomyces cellulosa* Isolate Actino 48. *Agronomy* 10(11): 1620.
4. Krcatović E, Rusak G, Bezić N (2008) Inhibition of tobacco mosaic virus infection by quercetin and vitexin. *Acta Virologica* 52(2) 119–124.
5. Scholthof K-BG (2017) Spicing Up the N Gene: F. O. Holmes and *Tobacco mosaic virus* Resistance in *Capsicum* and *Nicotiana* Plants. *Phytopathology* 107: 148–157.
6. Legg PD, Collins GB and Litton CC (1979) Effects of the N mosaic-resistance factor on agronomic and chemical traits in burley tobacco. *Crop Science* 19: 455–457.

Biological and agro-technical methods of tobacco mosaic virus control in cultivation of *Nicotiana tabacum* L.

Anna Trojak-Goluch

Institute of Soil Science and Plant Cultivation – State Research Institute, Department of Plant Breeding and Biotechnology, 8 Czarzoryskich Street, 24-100 Puławy

e-mail: anngol@iung.pulawy.pl

Recently in Poland, due to a global warming, an increase in many viral diseases has been observed, including tobacco mosaic which up to now has been a problem mainly in subtropical climate zone. The disease symptoms are manifested by leaf damage in the form of mosaic discolouration and plant dwarfism. The disease is caused by tobacco mosaic virus (TMV), one of the most widespread and aggressive plant viruses causing significant losses in tobacco cultivation worldwide (1). The high infection rate of tobacco by TMV is due to the high longevity and easy spread of the virus. Therefore, it is expected that in the near future, tobacco mosaic will become one of the most important problems in tobacco cultivation in Poland.

Agrotechnical methods are used to limit the occurrence of TMV and among them, high quality seed without contaminations, especially remains of plant tissues, which are the source of TMV infection, is of great importance. Cleaning and disinfecting agricultural equipment after each treatment is also important, as well as maintaining phytosanitary standards both in the seedbed and in the field. It is also important to use products that accelerate the decomposition and mineralization of plant residues which are the virus reservoir (2). It is recommended to use a rational crop rotation until the dead tobacco tissue is completely decomposed. Microorganisms antagonistic to the virus are increasingly used in reducing the severity of TMV in tobacco. Treatment of soil and seedlings with a *Pseudomonas putida* A3-m solution 5×10^8 CFU/ml significantly reduced the amount of TMV in the soil and the severity of the disease (3). The use of flavonoids such as quercetin and vitexin has also been shown to reduce the number of lesions caused by TMV (4). The most effective form of biological protection against TMV is the breeding and cultivation of resistant varieties. So far, the wild species *Nicotiana glutinosa* exhibiting hypersensitive type (HR) resistance has been most commonly used in breeding (5). Based on resistance derived from *N. glutinosa*, cultivars in the Burley type (6) as well as Virginia type have been bred (2).

References

1. Melton T, Gutierrez W, Broadwell A, Wilson J (2000) Plant pathology department extension research flue-cured tobacco disease report. North Carolina Cooperative Extension Service, Raleigh, USA.
2. Berbeć A (2017) Mozaika tytoniu – aktualne znaczenie choroby i sposoby jej zwalczania. Przegląd Tytoniowy 1: 8–11.
3. Abo-Zaid GA, Matar SM, Abdelkhalek A (2020) Induction of Plant Resistance against Tobacco Mosaic Virus Using the Biocontrol Agent *Streptomyces cellulosa* Isolate Actino 48. *Agronomy* 10(11): 1620.
4. Krcatović E, Rusak G, Bezić N (2008) Inhibition of tobacco mosaic virus infection by quercetin and vitexin. *Acta Virologica* 52(2) 119–124.
5. Scholthof K-BG (2017) Spicing Up the N Gene: F. O. Holmes and Tobacco mosaic virus Resistance in Capsicum and Nicotiana Plants. *Phytopathology* 107: 148–157.
6. Legg PD, Collins GB and Litton CC (1979) Effects of the N mosaic-resistance factor on agronomic and chemical traits in burley tobacco. *Crop Science* 19: 455–457.

Ocena działania wybranych olejków eterycznych jako źródła substancji wirusobójczych do ochrony roślin przed wirusem mozaiki ogórka

Elżbieta Paduch-Cichal¹, Ewa Mirzwa-Mróż¹, Patrycja Piasna¹, Beata Hasiów-Jaroszewska², Julia Minicka², Katarzyna Bączek³, Olga Kosakowska³, Zenon Węglarz³

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Instytut Nauk Ogrodniczych, Katedra Ochrony Roślin, Zakład Fitopatologii, ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa

²Instytut Ochrony Roślin Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Wirusologii i Bakteriologii, ul. Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznań

³Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Instytut Nauk Ogrodniczych, Katedra Warzywnictwa i Roślin Leczniczych, ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa

e-mail: elzbieta_paduch_cichal@sggw.edu.pl

Ostatnio olejki eteryczne są obiektem szczególnego zainteresowania jako nowa grupa substancji o działaniu przeciwwirusowym^{[1][2,3]}. W doświadczeniach prowadzonych *in vitro* zbadano przeciwwirusową aktywność trzech olejków eterycznych ekstrahowanych z roślin tymianku właściwego (*Thymus vulgaris* L.), greckiego oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* Link.) i wrotyczu balsamicznego (*Tanacetum balsamita* L.) wobec wirusa mozaiki ogórka (*Cucumber mosaic virus*, CMV). W badaniach rośliną wskaźnikową była komosa ryżowa (*Chenopodium quinoa*) reagująca objawami lokalnymi po infekcji CMV. Nie obserwowano jakichkolwiek zmian na liściach roślin inokulowanych tylko olejkami tymiankowym, olejkami z greckiego oregano albo olejkami wrotyczowym, o stężeniu 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm oraz 3000 ppm. Nie stwierdzono żadnych istotnych różnic w aktywności olejku z greckiego oregano i olejku wrotyczowego przy stężeniach 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm oraz 3000 ppm oraz olejku tymiankowego przy stężeniu 500 ppm w stosunku do wirusa mozaiki ogórka. Zaobserwowano istotne różnice w aktywności olejku tymiankowego dodanego do inokulum CMV w stężeniu 1000 ppm, 2000 ppm i 3000 ppm. Najsilniejszą aktywność olejku tymiankowego notowano po zastosowaniu stężenia 3000 ppm, najsłabszą po zastosowaniu stężenia 1000 ppm. W porównaniu do olejków z greckiego oregano i olejku wrotyczowego, olejek tymiankowy wyraźnie silniej hamował infekcję CMV przy stężeniu 3000 ppm, a współczynnik hamowania infekcji wyniósł 50,66%. Aplikowanie na liście *Ch. quinoa* olejku tymiankowego (3000 ppm) przed lub po inokulacji CMV wskazywało na wysoką ochronę roślin przed wirusem. Współczynnik hamowania infekcji CMV był 1,42 razy wyższy w przypadku aplikowania olejku tymiankowego na liście 24h przed inokulacją CMV w porównaniu do wartości otrzymanej w przypadku kiedy olejek tymiankowy podawano na liście 24 h po inokulacji CMV.

Literatura

1. Akthar MD, Degaga B, Azam T (2014) Antimicrobial activity of essential oils extracted from medicinal plants against the pathogenic microorganisms. A review. Issue Biol. Sci. Pharm. Res. 2: 001-007.
2. Nurzyńska-Wierdak R (2015) Terapeutyczne właściwości olejków eterycznych. Annales Umcs. Vol. XXV (1) Sectio Eee Horticultura, 1-19.
3. Reichling J, Schnitzler P, Suschke U, Saller R (2009) Essential oils of aromatic plants with antibacterial antifungal antiviral, and cytotoxic properties -an overview. Forschende Komplementärmedizin 16: 79-90.

The evaluation of selected essential oils as a source of antiviral substances for protection plants against *Cucumber mosaic virus*

Elżbieta Paduch-Cichal¹, Ewa Mirzwa-Mróż¹, Patrycja Piasna¹, Beata Hasiów-Jaroszevska², Julia Minicka², Katarzyna Bączek³, Olga Kosakowska³, Zenon Weglarz³

¹Warsaw University of Life Sciences Institute of Horticultural Sciences, Department of Plant Protection, Department of Plant Pathology, ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa

²Institute of Plant Protection National Research Institute, Department of Virology and Bacteriology, ul Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznań

³Warsaw University of Life Sciences Institute of Horticultural Sciences, Department of Vegetable and Medicinal Plants, ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa

e-mail: elzbieta_paduch_cichal@sggw.edu.pl

Recently, essential oils have been of particular interest as a new group of substances with antiviral activity^{[1][2,3]}. The antiviral activity of three essential oils extracted from thyme (*Thymus vulgaris* L.), Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* Link.) and costmary (*Tanacetum balsamita* L.) was tested *in vitro* against *Cucumber mosaic virus* (CMV). Quinoa (*Chenopodium quinoa* L.), which develops local symptoms after being infected with CMV, was used as a test plant. No symptoms were observed on leaves of *Ch. quinoa* plants inoculated with only the thyme, Greek oregano or costmary oil having a concentration of 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm or 3000 ppm. No significant differences were observed between the anti-CMV activity of the Greek oregano and costmary oils with the concentration of 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm and 3000 ppm and that of the thyme oil with the concentration of 500 ppm. Significant differences in activity against CMV were observed between the thyme oils with a concentration of 1000 ppm, 2000 ppm and 3000 ppm, respectively. The strongest anti-CMV activity of the thyme oil was observed with a concentration of 3000 ppm, and the weakest - with a concentration of 1000 ppm. Compared to the Greek oregano and costmary oils, the thyme oil had a much stronger inhibitory effect against CMV infection (percent of inhibition 50.66% for the concentration of 3000 ppm). The protective and curative experiments revealed that the thyme oil (3000ppm) had a high protective and curative effect against CMV. The percent of inhibition of CMV infection was 1.42 times higher when the thyme oil was applied on the leaves 24 h before the inoculation with CMV, compared to the percent of inhibition obtained when the thyme oil was applied on the leaves 24 h after the inoculation with CMV.

References

1. Akthar MD, Degaga B, Azam T (2014) Antimicrobial activity of essential oils extracted from medicinal plants against the pathogenic microorganisms. A review. Issue Biol. Sci. Pharm. Res. 2: 001-007.
2. Nurzyńska-Wierdak R (2015) Terapeutyczne właściwości olejków eterycznych. Annales Umcs. Vol. XXV (1) Sectio Eee Horticultura, 1-19.
3. Reichling J, Schnitzler P, Suschke U, Saller R (2009) Essential oils of aromatic plants with antibacterial antifungal antiviral, and cytotoxic properties -an overview. Forschende Komplementärmedizin 16: 79-90.

Wpływ fosforowego bionawozu na zróżnicowanie populacji fitopatogenów grzybowych zasiedlających glebę zdegradowaną chemicznie

Mateusz Mącik¹, Agata Gryta¹, Lidia Sas-Paszt², Magdalena Frąc¹

¹ Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

² Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach, ul. Pomologiczna 18, 96-100 Skierniewice

e-mail: m.macik@ipan.lublin.pl

Patogeny grzybowe są jednym z najważniejszych czynników wywołujących choroby roślin. Gatunki fitopatogeniczne bytujące w glebie przyczyniają się do obniżenia jakości i ilości plonów, a także do zmniejszenia produktywności gleb uprawnych. Do najważniejszych wyzwań zrównoważonego rolnictwa należy ograniczenie liczby patogenów przy jednoczesnym zachowaniu równowagi ekologicznej w ekosystemie glebowym [1].

Celem badań było określenie zmian w strukturze populacji fitopatogenów zasiedlających glebę zdegradowaną chemicznie pod wpływem fosforowego nawozu mineralnego wzbogaconego mikrobiologicznie.

Doświadczenie polowe prowadzone w latach 2018-2019 obejmowało następujące warianty nawożenia: FC-dawka optymalna bez wzbogacenia mikrobiologicznego, FA100-dawka optymalna wzbogacona mikrobiologicznie oraz FA60-dawka zredukowana o 40% zawierająca mikroorganizmy. Próbkę gleby pobierano w następujących terminach: lato 2018 (S18), jesień 2018 (A18), lato 2019 (S19) oraz jesień 2019 (A19). Różnorodność patogenów grzybowych została określona z wykorzystaniem sekwencjowania następnej generacji (NGS) oraz bazy danych FUNGuild [2].

Uzyskane wyniki wskazują na zmiany w strukturze populacji fitopatogenów grzybowych zasiedlających badaną glebę. W wariantach FA100-FA60(A18) oraz FA100-FA60(S19) zaobserwowano zmniejszenie liczby operacyjnych jednostek taksonomicznych (OTUs) przypisanych do rodzajów sklasyfikowanych jako patogeny roślinne w porównaniu do odpowiadających kontroli. Dominującymi fitopatogenami były grzyby z rodzajów *Clonostachys* (12.07%-69.73%), *Devriesia* (5.10%-29.63%), *Mycosphaerella* (0.42%-21.93%) oraz *Pseudocercospora* (3.23%-10.23%).

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu BIOSTRATEG, numer umowy BIOSTRATEG3/347464/5/NCBR/2017

Literatura

1. Doehlemann G, Ökmen B, Wenjun Z, Sharon A (2017) Plant Pathogenic Fungi. *Microbiology Spectrum* 5(1): FUNK-0023-2016.
2. Nguyen NH, Song Z, Bates ST, Branco S, Tedersoo L, Menke J, Schilling JS, Kennedy PG (2016). FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecology*, 20: 241– 248.

The effect of phosphorus biofertilizer on the diversity of fungal phytopathogens population inhabiting chemically degraded soil

Mateusz Mączik¹, Agata Gryta¹, Lidia Sas-Paszt², Magdalena Frąc¹

¹ Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, Poland

² Institute of Horticulture in Skierniewice, Pomologiczna 18, 96-100 Skierniewice, Poland

e-mail: m.macik@ipan.lublin.pl

Fungal pathogens are thought to be one of the most important drivers of plants diseases. Soil-borne phytopathogenic species contribute to lowering the quality and quantity of crop yields and to reducing the productivity of arable soils. The major challenges of sustainable agriculture involve limiting the number of pathogens while maintaining the ecological balance in the soil ecosystem [1].

The aim of the study was to determine variations in the composition of fungal phytopathogens population inhabiting chemically degraded soil under the influence of microbiologically enriched phosphorus mineral fertilizer.

The field experiment conducted in 2018-2019 included the following treatments: FC-optimal dose without microbial enrichment, FA100-optimal dose containing microorganisms and FA60-40% reduced dose containing microorganisms. Soil samples were collected on summer 2018 (S18), autumn 2018 (A18), summer 2019 (S19) and autumn 2019 (A19). Fungal phytopathogens diversity was determined using next generation sequencing and the FUNGuild database [2].

The obtained results indicate changes in the composition of fungal phytopathogens population inhabiting tested soil. In FA100-FA60(A18) and FA100-FA60(S19) treatments, a reduction in the number of operational taxonomic units (OTUs) assigned to genera classified as plant pathogens was observed in comparison with corresponding controls. The dominant phytopathogens were fungi belonging to the following genera: *Clonostachys* (12.07%-69.73%), *Devriesia* (5.10%-29.63%), *Mycosphaerella* (0.42%-21.93%) and *Pseudocercospora* (3.23%-10.23%).

The work was co-financed by The National Centre for Research and Development in frame of the project BIOSTRATEG, contract number BIOSTRATEG3/347464/5/NCBR/2017

References

1. Doehlemann G, Ökmen B, Wenjun Z, Sharon A (2017) Plant Pathogenic Fungi. *Microbiology Spectrum* 5(1): FUNK-0023-2016.
2. Nguyen NH, Song Z, Bates ST, Branco S, Tedersoo L, Menke J, Schilling JS, Kennedy PG (2016). FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecology*, 20: 241– 248.

Wpływ inokulum bakterii pożytecznych na zdolności funkcjonalne zbiorowisk mikroorganizmów zasiedlających fylosferę i ryzosferę malin

Michał Pylak, Karolina Oszust, Jacek Panek, Magdalena Frąć

Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

e-mail: m.pylak@ipan.lublin.pl

Biopreparaty bakteryjne mogą być ważnym narzędziem hamującym wzrost fitopatogenów grzybowych zarówno w uprawach konwencjonalnych jak i ekologicznych. Fitopatogeny grzybowe mogą powodować nawet do 60% strat w plonach upraw ekologicznych. Odpowiednio dobrane i zastosowane konsorcja bakteryjne mogą nie tylko pomóc w ograniczeniu skutków infekcji grzybowych, ale również wzmocnić odporność systemiczną roślin, zwiększyć plon, a także ilość mikro- i makro-składników obecnych w glebie i dostępnych dla roślin [1]. Przeprowadzone badania obejmowały określenie wpływu inokulum pożytecznych bakterii na mikrobiom ryzosfery i fylosfery malin w doświadczeniu wazonowym. Zdolności funkcjonalne oceniano zarówno za pomocą mikromacierzy fenotypowych, jak i z wykorzystaniem sekwencjonowania następnej generacji (NGS).

4 izolaty pożytecznych bakterii należących do rodzajów *Arthrobacter*, *Pseudomonas* i *Rhodococcus* zastosowane w 4 strategiach naturalizacji obejmujących inokulację korzeni malin podczas ich sadzenia, podlewanie naturalizacyjne zawierające inokulum bakterii 4 tygodnie po posadzeniu, naturalizację łączącą oba te rozwiązania oraz obiekty kontrolne bez zastosowania naturalizacji. Zastosowano 4 patosystemy zawierające najbardziej powszechne fitopatogeny owoców miękkich - *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum acutatum*, *Phytophthora* sp., *Verticillium* sp. i kontrolę bez żadnych patogenów. Po zakończeniu eksperymentu pobrano próbki ryzosfery i pędów, a następnie poddano je analizie profilowania funkcjonalnego z wykorzystaniem systemu Biolog® i płytek EcoPlates. Testy przeprowadzono z wykorzystaniem dwóch długości fali, co pozwoliło na określenie intensywności produkcji biomasy na różnych związkach organicznych (750 nm) oraz stopnia utylizacji substratów (590 nm) przez testowane izolaty bakteryjne. Na podstawie wartości pomiaru absorbancji przy wybranych długościach fali wyliczono indeks stresu substratowego. Ponadto przeprowadzono izolację DNA z próbek ryzosfery i fylosfery, a następnie DNA poddano analizie NGS z wykorzystaniem systemu Illumina MiSeq (Illumina, San Diego, CA, US). Wyniki zostały opracowane z wykorzystaniem środowiska QIIME2 oraz narzędziami FUNGuild i PICRUSt.

Aplikacja inokulum spowodowała obniżenie wskaźnika stresu substratowego dla zbiorowisk mikroorganizmów zasiedlających fylosferę, które były bardziej wrażliwe na działanie konsorcjum bakteryjnego niż zbiorowiska zasiedlające ryzosferę. Aplikacja inokulum spowodowała zmiany w zdolnościach funkcjonalnych zarówno zbiorowisk grzybowych, jak i bakteryjnych zasiedlających maliny.

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu BIOSTRATEG, numer umowy BIOSTRATEG3/344433/16/NCBR/2018

References

1. du Jardin, P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 2015, 196, 3–14, doi:10.1016/j.scienta.2015.09.021.

The effect of beneficial bacteria inoculum on the functional abilities of microbial communities inhabiting raspberry phyllosphere and rhizosphere

Michał Pylak, Karolina Oszust, Jacek Panek, Magdalena Frąć

Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

e-mail: m.pylak@ipan.lublin.pl

Bacterial biopreparations may be a valuable tool in inhibiting the growth of fungal plant pathogens in both organic and conventional farming. Fungal phytopathogens can cause up to 60% of yield loss in organic farming. Properly chosen and applied bacterial consortia may not only help with the defeat of phytopathogenic infection but also enhance plants' systemic resistance, increase the plants' yield, and increase the amount of soil micro- and macro-nutrients available for plants [1]. Presented research included the evaluation of the effect of beneficial bacteria inoculum on the rhizosphere and phyllosphere microbiome of raspberries in a pot experiment. Functional abilities were evaluated both with the use of phenotype microarrays and with the use of next-generation sequencing (NGS).

The 4 isolates of beneficial bacteria belonging to genera *Arthrobacter*, *Pseudomonas* and *Rhodococcus* were used in plants naturalization strategies including spreading over the roots of raspberry seedlings during planting, adding to watering 4 weeks after planting or combining both treatments. The 4 pathosystems were applied including *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum acutatum*, *Phytophthora* sp., *Verticillium* sp., and control without any pathogens. Samples of rhizosphere and shoots were taken and subjected to functional profiling analysis of their microbial communities with the use of Biolog® EcoPlates. The tests were carried out using two wavelengths of light. It allowed us to assess the intensity of biomass production on various organic compound (750 nm) and a degree of substrate utilization (590) nm by tested bacterial isolates. Then the Stress Substrate Index was calculated. Furthermore, following the pot experiment, the DNA was isolated from the rhizosphere and phyllosphere of raspberries and sequenced with the Illumina MiSeq platform (Illumina, San Diego, CA, US). Results were then analyzed with QIIME2 environment and with FUNGuild tool using UNITE or SILVA databases and PICRUSt software package.

The inoculum application resulted in reducing the stress substrate index value for microbial communities inhabiting the phyllosphere. Phyllosphere microbial communities were much more sensitive towards the bacterial inoculum application than the rhizosphere communities. The application of the beneficial bacteria consortium resulted in the change of functional abilities of both fungal and bacterial communities inhabiting raspberry plants.

This paper was financed by The National Centre for Research and Development in frame of the project BIOSTRATEG, contract number BIOSTRATEG3/344433/16/NCBR /2018

References

1. du Jardin, P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 2015, 196, 3–14, doi:10.1016/j.scienta.2015.09.021.

Wpływ regulatorów wzrostu na jakość bulw ziemniaka

Bożena Cwalina-Ambroziak¹, Jadwiga Wierzbowska², Agnieszka Waśkiewicz³

¹ Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Katedra Entomologii, Fitopatologii i Diagnostyki Molekularnej, ul. Prawocheńskiego 17, 10-719 Olsztyn

² Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Katedra Chemii Rolnej i Środowiskowej, ul. Oczapowskiego 8, 10-719 Olsztyn

³ Uniwersytet Przyrodniczy, Katedra Chemii, ul. Wojska Polskiego 75, 60-625 Poznań

e-mail: bambr@uwm.edu.pl

Biostymulatory i odmiany to ważne elementy w nowoczesnej uprawie ziemniaka, wpływają na plon i jakość bulw. Zawartość w nich m. in. cukrów redukujących i sacharozy oraz białka decyduje o wartościach żywieniowych, a zwłaszcza przetwórczych. Badania przeprowadzono w celu oznaczenia zawartości cukrów (glukozy, fruktozy, sacharozy) oraz białka ogółem w bulwach po zbiorze i 5-miesięcznym przechowywaniu (w temperaturze of 5°C). Materiał badawczy stanowiły bulwy pięciu odmian ziemniaka o różnym zabarwieniu miąższu: białym Irga, żółtym Satina, fioletowym Valfi i Blaue Saint Galler (Blaue St. Galler) i czerwonym Highland Burgundy Red (HB Red). Ziemniaki w okresie wegetacji traktowano biostymulatorami zgodnie z zaleceniami producentów: Asahi SL, Bio-Algeen S-90, Kelpak SL, Trifender WP. Roślin kontrolnych nie traktowano biostymulatorami. Cukry oznaczano po uprzedniej ekstrakcji, oczyszczaniu i filtracji (0,20 µm) chromatograficznie. Zawartość białka ogólnego oznaczano metodą Kjeldahla.

Większą zawartość sumy cukrów prostych (z przeważającym udziałem glukozy) stwierdzono w skórcie, miąższu i całych bulwach odmian o zabarwionym miąższu - fioletowym i czerwonym niż o tradycyjnym - białym i żółtym. Zastosowane biostymulatory, szczególnie Bio-Algeen S-90 i Kelpak SL, sprzyjały akumulacji monosacharydów. Najmniejszą ilość sacharozy zawierały bulwy (skórka, miąższ i bulwy ze skórką) odmiany Irga. Zastosowane preparaty, podobnie jak w przypadku cukrów prostych, zwiększały zawartość dwucukru. Taka prawidłowość wystąpiła w obu terminach analiz tj. po zbiorze i przechowywaniu bulw.

Po zbiorze najmniejszą zawartość białka ogółem stwierdzono w bulwach odmiany Irga i Satina (ok. 75 g kg⁻¹ s.m.), a największą w miąższu odmiany Blaue St. Galler (ok. 90 g kg⁻¹ s.m.). Po przechowywaniu bulw stwierdzono w nich zwiększenie zawartości białka. Po zbiorze w bulwach ziemniaka traktowanego biostymulatorami było więcej białka niż w bulwach roślin kontrolnych. Biostymulatory w nieznacznym stopniu wpływały na ilość tego składnika w przechowywanych bulwach.

The effect of plant growth regulators on the quality of potato tubers

Bożena Cwalina-Ambroziak¹, Jadwiga Wierzbowska², Agnieszka Waśkiewicz³

¹ University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Department of Entomology, Phytopathology and Molecular Diagnostics, Prawocheńskiego 17, 10-719 Olsztyn

² University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Department of Agricultural and Environmental Chemistry, Oczapowskiego 8, 10-719 Olsztyn

³ Poznań University of Life Sciences, Department of Chemistry, Wojska Polskiego 75, 60-625 Poznań

e-mail: bambr@uwm.edu.pl

The use of biostimulants and cultivar selection play an important role in modern potato farming because they influence tuber yield and quality. The nutritional value and processing suitability of potato tubers are affected by the content of reducing sugars, sucrose and protein. The aim of this study was to determine the content of sugars (glucose, fructose and sucrose) and total protein in potato tubers, at harvest and after five months of storage (at a temperature of 5°C). The experimental materials comprised tubers of five edible potato cultivars with different flesh colors: Irga with cream-colored flesh, Satina with yellow-colored flesh, Valfi and Blaue Saint Galler (Blaue St. Galler) with purple-colored flesh, and Highland Burgundy Red (HB Red) with red-colored flesh. During the growing season, potato plants were treated with the following biostimulants: Asahi SL, Bio-Algeen S-90, Kelpak SL and Trifender WP, in accordance with the manufacturers' instructions. Control plants were not treated with biostimulants. Sugars were determined by high-performance liquid chromatography, following their extraction, purification and filtration (0.20 µm). The total protein content of tubers was determined by the Kjeldahl method.

The content of total simple sugars (with a predominance of glucose) was higher in the skin, flesh and whole tubers of purple- and red-fleshed cultivars, compared with traditional cream- and yellow-fleshed cultivars. The applied biostimulants, in particular Bio-Algeen S-90 and Kelpak SL, contributed to the accumulation of monosaccharides. The tubers (skin, flesh and whole tubers with skin) of cv. Irga had the lowest sucrose content. Similarly to simple sugars, also the content of the disaccharide increased in response to the biostimulants, both at harvest and after storage.

At harvest, total protein content was lowest in the tubers of cvs. Irga and Satina (approx. 75 g kg⁻¹ DM), and highest in the flesh of cv. Blaue St. Galler (approx. 90 g kg⁻¹ DM). The total protein content of tubers increased during storage. At harvest, the tubers of potato plants treated with biostimulants had higher protein content than the tubers of control plants. Biostimulants exerted a minor effect on total protein concentration in stored tubers.

Wpływ fitopatogenów na rozwój inwazji obcych gatunków roślin

Katarzyna Patejuk¹, Wojciech Pusz¹, Anna Baturo-Cieśniewska², Kamil Najberek³

¹ Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Katedra Ochrony Roślin; pl. Grunwaldzki 24A, 50-363 Wrocław, Polska

² Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich; Wydział Rolnictwa i Biotechnologii; Katedra Biologii i Ochrony Roślin; ul. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz, Poland

³ Instytut Ochrony Przyrody PAN w Krakowie; al. Adama Mickiewicza 33, 31-120 Kraków
email: katarzyna.patejuk@upwr.edu.pl

Inwazja biologiczna to jedno z największych wyzwań środowiskowych XXI wieku. Wymieranie rodzimych gatunków, straty gospodarcze, a nawet zagrożenie bezpieczeństwa i zdrowia ludzi to tylko niektóre ze skutków ekspansji obcych gatunków. Głównym celem badań było określenie składu mykobioty zamieszkującej trzy inwazyjne gatunki roślin: *Acer negundo*, *Padus serotina* i *Spiraea tomentosa*. Badania prowadzono w latach 2017-2019 w trzech lokalizacjach w Polsce: we Wrocławiu, w Borach Dolnośląskich oraz w Wigierskim Parku Narodowym. Na podstawie miesięcznych obserwacji terenowych określono zróżnicowanie i dynamikę pojawu objawów chorobowych. Szczepy wyizolowane z tkanek zielonych i nasion poddano analizie genetycznej na podstawie fragmentów ITS. Za pomocą modeli GLMM określono zależności pomiędzy wskaźnikiem porażenia tkanek zielonych, mykobioty nasion i bioróżnorodność grzybów w odniesieniu do czynników klimatycznych, zanieczyszczenia powietrza i warunków siedliskowych. Po raz pierwszy zidentyfikowano nowy szczep *Fusarium* powodujący zamieranie pędów klonu jesionolistnego w Europie oraz określono potencjalne zagrożenie ze strony fitopatogenów zasiedlających rośliny inwazyjne dla upraw sadowniczych. Jest to pierwsze kompleksowe badanie identyfikujące mykobiotę roślin inwazyjnych w Polsce i jedno z pierwszych tego typu badań w Europie.

Phytopathogens and their influence to the invasion development of alien plant species

Katarzyna Patejuk¹, Wojciech Pusz¹, Anna Baturó-Cieśniewska², Kamil Najberek³

¹ Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Katedra Ochrony Roślin; pl. Grunwaldzki 24A, 50-363 Wrocław, Polska

² Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich; Wydział Rolnictwa i Biotechnologii; Katedra Biologii i Ochrony Roślin; ul. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz, Poland

³ Instytut Ochrony Przyrody PAN w Krakowie; al. Adama Mickiewicza 33, 31-120 Kraków
email: katarzyna.patejuk@upwr.edu.pl

Biological invasion is one of the greatest environmental challenges of the 21st century. Displacement of native taxa, economic losses and even threat to human health are just some of the effects of the expansion of alien species. The main aim of the research was to determine the mycobiota composition inhabiting three invasive plant species: *Acer negundo*, *Padus serotina* and *Spiraea tomentosa*, and to determine the pathogenicity potential of selected species of fungi isolated from the infected tissues. The research was conducted throughout 2017-2019 in three locations in Poland: in Wrocław, in Bory Dolnośląskie and in the Wigry National Park. Based on monthly field observations, the diversity and dynamics of disease symptoms appearance were determined. Strains isolated from green tissues and seeds were genetically analyzed, based on ITS fragments. Using GLMM models, the disease index, mycobiota of seeds and the biodiversity of fungi were analyzed in relation to climatic factors, air pollution and habitat conditions. New *Fusarium* strains have been identified causing dieback of the shoots of the ash-leaf maple in Europe. This is the first comprehensive study to identify the mycobiota of invasive plants in Poland and one of the first of such kind in Europe.

Różnorodność bakterii glebowych w wybranych szkółkach leśnych

Marta Bełka¹, Marta Molińska-Glura², Adriana Bartyzel¹

¹ Katedra Entomologii i fitopatologii leśnej, ul. Wojska Polskiego 71C, 60-625 Poznań

² Katedra Ekonomiki i techniki leśnej ul. Wojska Polskiego 71C, 60-625 Poznań azwa jednostki, w

e-mail: marta.belka@up.poznan.pl

Bakterie są w stanie skolonizować wszystkie ekosystemy lądowe i wodne, od miejsc ubogich w związki organiczne po bogate środowiska – oceany, jeziora, rzeki czy gleby, są również obecne w powietrzu. Celem niniejszej pracy było zbadanie bioróżnorodności bakterii obecnych w glebie w wybranych szkółkach leśnych. Próbki gleby ze szkółek leśnych analizowano metodą sekwencjonowania nowej generacji (NGS). W trakcie badań opisano OTU (operacyjna jednostka taksonomiczna) należące do królestw Archaea i Bacteria. Ponadto 28-39% OTU nie zostało przypisanych do żadnego z powyższych. Udział procentowy pierwszego wymienionego królestwa w trzech szkółkach leśnych różnił się między szkółkami. We wszystkich badanych miejscach stwierdzono obecność bakterii należących do: Chloracidobacteria, Fimbriimonadia, Leptospirae, Methyacidiphilae, Pedosphaerae, Saprospirae, Spartobacteria, Acidimicrobia, Acidobacteria, Actinobacteria, Alphaproteobacteria, Anaerolineae, Armatimonadia, Chloroflexi, Chloroplast, Chthonomonadetes, Clostridia, Cytophagia, Deinococci, Deltaproteobacteria, Elusimicrobia, Endomicrobia, Fibrobacteria, Flavobacteriia, Gammaproteobacteria, Gemmatimonadetes, Holophagae, Ktedonobacteria, Nitrospira, Opitutae, Oscillatoriothycideae, Phycisphaerae, Planctomycetia, Rubrobacteria, Solibacteres, Sphingobacteriia, Spirochaetes, Synechococcophycideae, Termoleofilia, termomikrobia, Verrucomicrobiae. Zbiorowiska bakterii różniły się od siebie różnorodnością taksonomiczną. W glebach badanych szkółek leśnych dominowały Proteobacteria, Acidobacteria, Gemmatimonadetes i Verrucomicrobia. Największą różnorodność bakteryjną wykazano w szkółce leśnej zlokalizowanej na południu kraju.

Bacterial biodiversity in selected forest nurseries

Marta Bełka¹, Marta Molińska-Glura², Adriana Bartyzel¹

¹ Department of Forest Entomology and Phytopathology, Wojska Polskiego 71 C, 60-625 Poznań, Poland

² University of Life Sciences in Poznań, Department of Forest Economics and Technology, Wojska Polskiego 71 C, 60-625 Poznań, Poland

e-mail: marta.belka@up.poznan.pl

Bacteria are able to colonize all terrestrial and aquatic ecosystems, ranging from places poor in organic compounds to rich environments – oceans, lakes, rivers or soils, they are also present in the air. The aim of this work was to examine the biodiversity of bacteria present in the soil in selected forest nurseries. The soil samples from the forest nurseries were analysed with Illumina sequencing. During the research, OTU (operational taxonomic unit) belonging to Archaea and Bacteria were described. Additionally, 28-39% of OTUs have not been assigned to any of the above. The percentage share of the first-mentioned kingdom in the three forest nurseries differed between nurseries. In all of the tested forest nurseries following bacteria were found: Chloracidobacteria, Fimbriimonadia, Leptospirae, Methyacidiphilae, Pedosphaerae, Saprospirae, Spartobacteria, Acidimicrobia, Acidobacteria, Actinobacteria, Alphaproteobacteria, Anaerolineae, Armatimonadia, Bacilli, Bacteroidia, Betaproteobacteria, Chlamydiia, Chloroflexi, Chloroplast, Chthonomonadetes, Clostridia, Cytophagia, Deinococci, Deltaproteobacteria, Elusimicrobia, Endomicrobia, Fibrobacteria, Flavobacteriia, Gammaproteobacteria, Gemmatimonadetes, Holophagae, Ktedonobacteria, Nitrospira, Opitutae, Oscillatoriothycideae, Phycisphaerae, Planctomycetia, Rubrobacteria, Solibacteres, Sphingobacteriia, Spirochaetes, Synechococcophycideae, Thermoleophilia, Thermomicrobia, Verrucomicrobiae. The bacterial communities differed from each other in terms of taxonomic diversity. Proteobacteria, Acidobacteria, Gemmatimonadetes and Verrucomicrobia predominated in the soils of the studied forest nurseries. The forest situated in Southern Poland, showed the greatest bacterial diversity.

Zmiany rozmieszczenia fitopatogenów względem innych grup mikroorganizmów w glebie w zależności od głębokości i uprawianej rośliny

Magdalena Frąc¹, Agata Gryta¹, Anna Piotrowska-Długosz²

¹Institut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

²Katedra Biogeochemii i Gleboznawstwa, Wydział Rolnictwa i Biotechnologii, Politechnika Bydgoska, ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

e-mail: m.frac@ipan.lublin.pl

Grzyby należą do mikroorganizmów, pełniących wiele funkcji w agroekosystemach, zapewniając ich stabilność ekologiczną oraz adaptację do warunków stresowych, a także udostępniając roślinom składniki pokarmowe, uczestnicząc w tworzeniu struktury gleby, rozkładzie materii organicznej czy detoksykacji środowiska. Jednakże, organizmy te cechują się również zdolnością do wywoływania wielu chorób roślin. Niektóre grzyby mogą występować w glebie, na powierzchni roślin czy resztkach roślinnych jako saprofity, a w obecności podatnego gospodarza roślinnego i sprzyjających warunków środowiskowych powodują infekcje roślin wpływając na obniżenie ilości i jakości plonu. Badania zbiorowisk mikroorganizmów koncentrują się głównie na określaniu ich składu taksonomicznego, przy czym w szczególności dotyczą społeczności bakterii w zależności od różnych czynników środowiskowych, klimatycznych czy antropogenicznych. Jednakże niewiele jest badań dotyczących zbiorowisk grzybów, a w szczególności ich grup troficznych występujących na różnych głębokościach profilu glebowego, biorąc pod uwagę uprawiane rośliny.

Celem przeprowadzonych badań było zatem określenie rozmieszczenia grup troficznych grzybów, ze szczególnym uwzględnieniem fitopatogenów, występujących na poziomach genetycznych gleby płowej typowej pod uprawą różnych roślin. Badania zostały przeprowadzone w czterech profilach glebowych pod lucerną (L), pszenicą (W), winnicą (V) oraz sadem gruszkowym (O), pochodzących z pięciu poziomów profilu glebowego mieszczących się na głębokościach od około 0-30 cm do około 150 cm. W ramach przeprowadzonych badań wykonano ekstrakcję DNA z próbek gleby, przygotowano biblioteki genomowe w obrębie hiperzmiennych sekwencji ITS1, które następnie poddano sekwencjonowaniu następnej generacji (NGS) z wykorzystaniem platformy MiSeq Illumina. Analiza metataksonomiczna umożliwiła porównanie uzyskanych sekwencji z referencyjną bazą danych UNITE, pozwalając na identyfikację i klasyfikację taksonomiczną oraz określenie kompozycji bioty grzybów w próbkach gleby. W analizie danych wykorzystano bazę oraz oprogramowanie FUNGuild, które umożliwiło określenie grup troficznych reprezentowanych przez zbiorowiska grzybów występujących w poszczególnych próbkach gleby, a także przypisanie im funkcjonalnych podgrup troficznych.

Przeprowadzone badania wykazały, że największą liczbą sekwencji przypisanych do poziomów troficznych charakteryzowała się gleba pochodząca z sadu gruszkowego, a najmniejszą pobrana spod lucerny. Jednocześnie uzyskane wyniki wskazują na potencjalne fitosanitarne działanie lucerny, zaś największy odsetek patotrofów, głównie roślinnych, stwierdzono pod uprawą pszenicy. W glebie pobranej z winnicy i sadu dominowały natomiast grzyby symbiotroficzne, głównie mykoryzowe. Obecność patotrofów obniżała się na ogół wraz z głębokością profilu glebowego, a saprotrofy dominowały we wszystkich poziomach genetycznych gleby, z wyjątkiem poziomów Eet1, Eet2 i EB, w których zaobserwowano wzmożone występowanie symbiotrofów.

Praca sfinansowana przez Narodowe Centrum Nauki w ramach programu Opus 15, numer umowy UMO-2018/29/B/NZ9/00982

Changes of phytopathogens distribution comparing to the other microbial groups depending to on the soil depth and cultivated plants

Magdalena Frąc¹, Agata Gryta¹, Anna Piotrowska-Długosz²

¹Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

²Department of Biogeochemistry and Soil Science, Faculty of Agriculture and Biotechnology, Bydgoszcz University of Science and Technology, Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

e-mail: m.frac@ipan.lublin.pl

Fungi are microorganisms that promote many functions in agroecosystems, ensuring their ecological stability and adaptation to stress conditions, as well as providing plants with nutrients, participating in the formation of soil structure, decomposition of organic matter, environmental detoxification and plant protection. However, these organisms also have the ability to cause plant diseases. Some fungi may appear in soil, on the surface of plants or plant residues as saprophytes, and in the presence of a susceptible plant host and favorable environmental conditions, they cause plant infections, reducing the quantity and quality of the crop. Research on the communities of microorganisms focuses mainly on determining their taxonomic composition, and in particular they concern the community of bacteria depending on various environmental, climatic and anthropogenic factors. However, there are few studies on the fungal communities, and in particular on their trophic groups occurring at different depths of the soil profile, taking into account the cultivated plants.

The aim of the research was to determine the distribution of the fungal trophic groups, with particular emphasis on phytopathogens, occurring at five genetic horizons of Haplic Luvisols under the cultivation of various plants. The research was carried out in four soil profiles under lucerne (L), wheat (W), vineyard (V) and pear orchard (O), coming from five levels of the soil profile located at depths from about 0-30 cm to about 150 cm. The research included DNA extraction from soil samples, genomic libraries preparation within the ITS1 hypervariable sequences, and next generation sequencing (NGS) using the MiSeq Illumina platform. Meta-taxonomic analysis made it possible to compare the obtained sequences with the reference UNITE database, allowing for the identification and taxonomic classification and determination of the composition of the fungal biota in soil samples. The FUNGuild database and software was used for the determination of the trophic modes represented by the fungal communities occurring in individual soil samples, as well as for the assignment of functional trophic guilds.

The conducted research showed that the soil from the pear orchard had the highest number of sequences assigned to the trophic modes, and the lowest one collected from lucerne. The obtained results indicate the potential phytosanitary effect of lucerne, and the highest percentage of pathotrophs, mainly plant ones, was found under the cultivation of wheat. Symbiotrophic fungi, mainly mycorrhizal fungi, dominated in the soil collected from the vineyard and orchard. The presence of pathotrophs generally decreased with the depth of the soil profile, and saprotrophs dominated in all genetic levels of soil, except for the levels of Eet1, Eet2 and EB, where an increased occurrence of symbiotrophs was observed.

The work was financed by National Science Center in frame of the project Opus 15, contract number UMO-2018/29/B/NZ9/00982

