

# ***Postępy nauk rolniczych***

***Advances in Agricultural Sciences***

***2/2009***

***Polska Akademia Nauk  
Wydział Nauk  
Rolniczych, Leśnych  
i Weterynaryjnych***

***Dwumiesięcznik  
nr 338 rok 61***

## **Rada Redakcyjna**

A. Grzywacz (przewodniczący),  
J. Haman, T. Krzymowski, J.J. Lipa  
A. Rutkowski, F. Tomczak, M. Truszczyński, J. Wilkin

## **Redakcja**

A. Horubała (redaktor naczelny),  
J. Buliński, T. Brandyk, A. Gawrońska-Kulesza, W. Józwiak,  
J. Zimny, T. Żebrowska,  
R. Suska (sekretarz redakcji)

## **Adres Redakcji**

00-901 Warszawa, Pałac Kultury i Nauki, pokój 2102  
tel. 0 22 620 33 71, 0 22 656 64 66  
e-mail: [Wydzial5@pan.pl](mailto:Wydzial5@pan.pl); [post.nauk.rol@gmail.com](mailto:post.nauk.rol@gmail.com)

Wydanie publikacji dofinansowane przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Opracowanie redakcyjne, korekta i skład — Danuta Borecka

**PL ISSN 0032-5547**

Nakład 200 egz. Ark. wyd. 8,75. Ark. druk. 7,5.  
Skład — DABOR 02-795 Warszawa ul. Kazury 22/27,  
tel. 0 600 372 929  
Druk — Warszawska Drukarnia Naukowa PAN,  
00-656 Warszawa ul. Śniadeckich 8, tel./faks 0 22 628 87 77

## **Znaczenie cynku w uprawie pszenicy**

***Jolanta Korzeniowska***

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa  
– Państwowy Instytut Badawczy w Puławach  
Zakład Herbologii i Techniki Uprawy Roli we Wrocławiu  
ul. Orzechowa 61, 50-540 Wrocław  
e-mail: j.korzeniowska@iung.wroclaw.pl*

**Słowa kluczowe:** cynk, pszenica, niedobór na świecie, wrażliwość na niedobór, zróżnicowanie odmianowe, diagnoza potrzeb nawożenia, dawki Zn, interakcja Zn-P

### **Wstęp**

Niedobór cynku jest najpoważniejszym deficytem mikroelementowym ograniczającym światową produkcję żywności, a zwłaszcza ryżu, kukurydzy i pszenicy. Ocenia się, że około 50% gleb objętych uprawą zbóż na świecie charakteryzuje się niewystarczającą zawartością dostępnych dla roślin form tego pierwiastka [12]. Ziarno pszenicy uprawianej na tych obszarach cechuje się zbyt niską zawartością cynku, niedostateczną z punktu widzenia potrzeb żywieniowych człowieka. Szacuje się, że cynk, obok żelaza i jodu, jest mikroelementem, którego niedobór u ludzi jest najbardziej rozpowszechniony na świecie [62, 74]. Przyczyną tego jest jednostronna, zbyt uboga dieta oparta głównie na produktach zbożowych, stosowana szczególnie w krajach rozwijających się. Na niedobór cynku cierpią przede wszystkim dzieci oraz ciężarne i karmiące kobiety w takich rejonach świata jak Turcja, Indie i Pakistan. Najbardziej rozpowszechnionym objawem niedoboru cynku u ludzi są biegunki i zahamowanie wzrostu u dzieci [2]. Ponieważ deficyt cynku zagraża zdrowiu wielu milionów ludzi, obecnie na świecie prowadzi się szeroko zakrojone badania nad wyszukiwaniem odmian pszenicy, które byłyby tolerancyjne na niedobór w glebie i równocześnie zawierały możliwie najwięcej tego pierwiastka w ziarnie [61, 72].

## Występowanie niedoborów cynku na świecie i w Polsce

Cynk jest mikroelementem, którego deficyt w glebach jest szeroko rozpowszechniony na wszystkich kontynentach świata [1, 74]. W odróżnieniu do innych mikroelementów niedobory cynku występują w klimacie zimnym i ciepłym, na glebach nawadnianych i nienawadnianych, kwaśnych i alkalicznych oraz ciężkich i lekkich [61]. Na przykład w Turcji ostre niedobory cynku związane są z glebami węglanowymi, a w Australii z kwaśnymi glebami piaszczystymi. W szeroko zakrojonych badaniach FAO Sillanpa [65] wykazał, że ze 190 próbek gleb pobranych w 25 krajach aż 49% wykazywało niską zawartość cynku. Ponadto spośród badanych 6 mikroelementów najczęściej był spotykany niedobór cynku, a w następnej kolejności boru. Alloway [1] omawiając problem deficytu cynku na świecie podaje, że niedobory dotyczą 14 mln ha gleb uprawnych w Turcji (Anatolia), 60% w Iranie i 70% gleb w Pakistanie, 1,75 mln ha w Bangladeszu, 500 tys ha na Filipinach oraz 8 mln ha w zachodniej Australii. W Chinach niedoborami cynku zagrożone jest 13 mln ha, na których prowadzi się zmianowanie ryż–pszenica. W Indiach deficyt cynku ogranicza produkcję rolniczą w 11 stanach, głównie w stanie Pendżab, Uttar Pradesh, Haryana oraz w okolicach Dehli. Ponadto niedobory cynku były obserwowane w USA, Afryce, Ameryce Południowej, Europie i na Bliskim Wschodzie. O znacznych ograniczeniach plonowania pszenicy na skutek deficytu Zn w Turcji donoszą Cakmak [11] i Cakmak i in. [16, 21], w Australii – Graham i in. [30] oraz Brennan [6], w Indiach – Takkar i Walker [69], i w Pakistanie – Imtiaz i in. [35, 37].

W Polsce niedobór cynku nie jest podstawowym problemem mikroelementowym. Znacznie bardziej rozpowszechnione są niedobory boru i miedzi. Gleby polskie, w przeważającej części lekkie i kwaśne, charakteryzują się w większości średnią zasobnością w cynk, a poważniejsze niedobory u ludzi i zwierząt są rzadko spotykane. Według badań inwentaryzacyjnych przeprowadzonych przez IUNG we współpracy ze stacjami chemiczno-rolniczymi mamy w kraju ok. 13–14% gleb o niskiej zawartości przyswajalnych form cynku [47, 53]. Jednak rośliny bardziej wrażliwe na niedobory tego pierwiastka mogą reagować dodatkowo na nawożenie Zn nawet na glebach o zasobności średniej, szczególnie w przypadku wysokiego nawożenia fosforowego. Znane jest zjawisko antagonizmu P–Zn, polegające na mniejszym pobieraniu cynku przy wysokich zawartościach fosforu w glebie.

## Rola cynku w roślinie

Biologiczna rola cynku w procesach życiowych została po raz pierwszy zaobserwowana w 1869 roku przez Raulina w badaniach z grzybem *Aspergillus niger*, który nie mógł rozwijać się przy braku tego pierwiastka. Jednak niezbędność cynku dla roślin potwierdzono dopiero w roku 1926, a pierwsze niedobory w produkcji roślinnej wykryto dopiero w 1932 r. w sadach jabłoniowych i cytrusowych.

Cynk jest składnikiem wielu enzymów (anhydrazy węglanowej, kilku dehydrogenaz, peptydazy, fosfatazy), a tym samym bierze udział w metabolizmie węglowodanów, białek i związków fosforowych [1, 45]. Ponadto wpływa na przepuszczalność błon komórkowych, bierze udział w syntezie auksyn i zwiększa odporność roślin na suszę i choroby [40].

## **Pobranie, transport i dostępność cynku dla roślin**

Cynk może być pobierany przez korzenie w postaci kationu  $Zn^{2+}$  i chelatów organicznych. W warunkach deficytu w glebie Fe i Zn korzenie pszenicy i innych roślin zbożowych wydzielają substancje zwane fitosideroforami, które zwiększają mobilność tych pierwiastków i umożliwiają ich sprawne pobranie [15, 18, 59, 51]. Takimi fitosideroforami są głównie niebiałkotwórcze aminokwasy lub ich pochodne, a wśród nich kwas mugeinowy.

Nie ma zgody co do sposobu przemieszczenia się cynku w roślinach pszenicy. Niektórzy autorzy wykazali, że pierwiastek ten może być łatwo przemieszczany przez floem [24, 32, 60], inni donoszą o braku takiego sposobu transportu cynku [71]. Wydaje się, że przy luksusowym zaopatrzeniu roślin niektóre gatunki potrafią przemieszczać znaczne ilości Zn ze starszych liści do organów generatywnych, podczas gdy w sytuacji deficytu reutilizowane mogą być jedynie niewielkie ilości tego pierwiastka [41]. Należy podkreślić, że zarówno możliwości pobrania przez korzenie, jak i sposób przemieszczania się cynku wewnątrz rośliny ma związek z jej tolerancją na niedobór tego składnika.

Cynk występujący w glebie w roztworze glebowym lub w łatwo rozpuszczalnych formach jest równocześnie łatwo dostępny dla roślin [50]. Na dostępność cynku mają wpływ te czynniki glebowe, które kontrolują ilość cynku w roztworze (sorpcję i desorpcję do i z roztworu). Zaliczamy do nich całkowitą zawartość cynku w glebie, pH, substancję organiczną, zawartość węglanów, aktywność mikrobiologiczną w rizoferze, zawartość innych mikro- i makroelementów oraz wilgotność gleby i klimat. W warunkach Polski stężenie cynku w roztworze glebowym wykazuje charakterystyczną zmienność w okresie wegetacji – jest najniższe wczesną wiosną i znacznie wzrasta w okresie późnowiosennym po zastosowaniu nawożenia mineralnego [51].

## **Interakcja cynku z innymi składnikami pokarmowymi**

Spśród wielu interakcji cynku z innymi składnikami pokarmowymi najbardziej rozpowszechniona i istotna dla produkcji rolniczej jest interakcja Zn-P. Wiele prac dokumentuje zależność Zn-P dla pszenicy lub innych zbóż [22, 34, 46, 48, 52, 78], ale tylko niektóre próbują ją wyjaśniać. Loneragan i Webb [49] rozróżniają dwa typy interakcji Zn-P. Najpowszechniej opisywany jest przypadek, gdy przy niewystar-

czającej ilości Zn i P w glebie nawożenie fosforowe prowadzi do zmniejszenia zawartości cynku w tkankach roślinnych. W takiej sytuacji dodatek fosforu powoduje tak znaczny przyrost biomasy, że dochodzi do tzw. rozcieńczenia Zn w tkankach roślinnych aż do poziomu wywołującego lub zwiększającego deficyt cynku. Są jednak sytuacje, w których deficyt cynku wywołany przez nawożenie fosforowe nie jest wynikiem rozcieńczenia. Wydaje się, że wtedy fosfor może wpływać zarówno na zmniejszenie pobrania Zn przez korzenie, jak i hamować jego transport z korzeni do pędów. Generalnie można stwierdzić, że wzrost zawartości P w tkankach roślinnych zwiększa wewnętrzne zapotrzebowanie rośliny na cynk. Cakmak i Braun [12] stwierdzają, że wysokie nawożenie fosforowe może wywoływać niedobór cynku u pszenicy. Aloway [1] omawia również inne przykłady interakcji Zn-P. Przy wysokim zaopatrzeniu w cynk, fosfor może unieruchamiać go w korzeniach poprzez tworzenie fitynianów cynku. Deficyt Zn może pogłębiać toksyczność fosforu dla roślin. Ponadto w niektórych przypadkach nawożenie fosforowe może zwiększać zawartość Zn w roślinie. Zjawisko to tłumaczy się, obniżaniem przez nawozy fosforowe odczynu gleby lub zanieczyszczeniem tych nawozów cynkiem.

Azot wpływa na stan odżywienia rośliny cynkiem w dwojaki sposób – powodując silny wzrost biomasy oraz zmieniając odczyn gleby w strefie korzeniowej. Podobnie jak w przypadku fosforu, nawożenie azotowe przy deficycie Zn w glebie powoduje zmniejszenie się zawartości Zn w tkankach na skutek efektu rozcieńczenia. Poza tym niektóre nawozy dość silnie zakwaszają glebę i w efekcie doprowadzają do większej dostępności Zn dla roślin.

Antagonistyczna interakcja Zn-Cu, opisywana w literaturze [33, 41, 49], zachodzi na skutek zahamowania pobierania jednego z pierwiastków przez drugi oraz zmian w przemieszczaniu się obu składników wewnątrz rośliny. W sytuacji braku w glebie obu pierwiastków aplikacja tylko jednego z nich może powodować pogłębienie się deficytu drugiego (1).

Prócz często opisywanych interakcji P-Zn, Zn-N i Cu-Zn znane jest jeszcze występowanie interakcji Zn-Ca, Zn-Fe i Zn-Cd [1, 36, 41, 49, 73, 79].

## **Wrażliwość pszenicy na brak cynku**

Pomimo że pszenica zaliczana jest na ogół do gatunków o niskiej wrażliwości na brak cynku [1, 25, 43], znacznie mniejszej niż kukurydza, ryż, sorgo czy fasola, to w wielu rejonach świata jej produkcja jest silnie ograniczana przez brak tego pierwiastka. Niedobór cynku wciąż pozostaje jednym z głównych problemów w uprawie pszenicy na świecie. Na przykład w niektórych rejonach Turcji plony pszenicy są ograniczone przez niedobór cynku aż o 50% [1, 11]. W badaniach wrażliwości pszenicy na brak cynku wielu autorów porównywało ją z innymi roślinami. Większość prac donosi, że pszenica chlebowa jest bardziej tolerancyjna na niedobór Zn niż pszenica twarda [15, 18, 20]. W badaniach Brennana i in. [9] wykazano, że zapo-

trzebowanie pszenicy na cynk było większe niż soczewicy i mniejsze niż ciecioriki i fasoli, a w badaniach Brennana i Bolland [7], że pszenica charakteryzowała się mniejszą tolerancją na niedobór Zn niż rzepak i łubin. Cakmak i in. [14, 15, 20] oraz Cakmak i Braun [12] podkreślają, że wśród zbóż najbardziej tolerancyjne jest żyto, następnie pszenżyto, a pszenica (szczególnie twarda) jest gatunkiem najbardziej wrażliwym na brak cynku. Żyto charakteryzuje się szczególnie wysokimi możliwościami wykorzystywania Zn z gleby. Tolerancja na niedobór cynku u żyta kontrolowana jest przez geny ulokowane na chromosomach 1R i 7R [14]. Wykazywana przez przeżyto, mieszańca żyta i pszenicy, wysoka efektywność wykorzystania cynku sugeruje, że cecha ta charakterystyczna dla żyta może być przenoszona do genomu pszenicy. Umożliwiłoby to stworzenie nowych odmian pszenicy charakteryzujących się wysoką tolerancją na niedobory tego pierwiastka [14, 15],

### **Zróżnicowanie odmianowe wrażliwości na niedobór cynku**

Badania ostatnich 15. lat wykazały, że pszenica wykazuje znaczne zróżnicowanie odmianowe w tolerancji na niedobór cynku. Najwięcej prac dokumentujących różną efektywność wykorzystania cynku (tolerancję na niedobór) pochodzi z Turcji [12, 16, 17, 19, 23, 42, 70], Australii [27, 28, 30, 57, 58] i Pakistanu [36, 37]. W sytuacji deficytu cynku badane odmiany różniły się demonstrowaniem objawów niedoboru Zn, zawartością Zn w pędach i w ziarnie, wielkością osiągniętych plonów oraz reakcją na nawożenie cynkiem. Duże zróżnicowanie reakcji odmian na brak cynku w glebie nasunęło pomysł stworzenia nowych genotypów charakteryzujących się wysoką efektywnością wykorzystania tego pierwiastka. Prowadzone w ostatnich latach badania światowe skupiają się na pracach hodowlanych mających na celu zwiększenie produktywności pszenicy na glebach deficytowych w cynk oraz zwiększenie zawartości Zn w ziarnie, a w konsekwencji poprawienie stanu odżywienia ludności [13, 27, 14, 61]. Obszerne badania tureckie były prowadzone w ramach szerokiego, skupiającego wiele instytucji, projektu badawczego współfinansowanego przez „NATO-Science Stability Programme” [11].

W światowych centrach badawczych poszukuje się, nowych odmian pszenicy efektywnie wykorzystujących cynk. Termin „efektywność wykorzystania cynku” został wprowadzony w 1984 r., przez Grahama [29] i oznacza tolerancję danej odmiany na niedobór Zn w glebie, która głównie polega na możliwości większego pobrania tego pierwiastka z gleby w sytuacji, gdy dla innych odmian jest on niedostępny. Uprawa „efektywnych odmian” na glebach deficytowych reprezentuje nową bardzo ciekawą strategię przystosowania roślin do gleb w miejsce starej polegającej na przystosowaniu gleby do potrzeb roślin.

## Wizualne objawy niedoboru cynku u pszenicy

Podobnie jak w przypadku innych mikroelementów, diagnoza niedoborów cynku na podstawie objawów wizualnych nie jest łatwa, ponieważ nie zawsze niewystarczająca ilość składnika powoduje nieprawidłowy wygląd roślin. Często spotyka się tzw. ukryte niedobory, gdzie jedynym skutkiem deficytu jest zmniejszenie plonu przy normalnym wyglądzie roślin. Ponadto występujące objawy zewnętrzne niedoboru często trudno jest odróżnić od symptomów porażenia przez choroby, uszkodzeń wywołanych przez szkodniki lub niekorzystnych warunków pogodowych, takich jak mroz lub susza. Dodatkowo objawy wizualne mogą być nieco inne u różnych odmian.

Pierwszym objawem niedoboru cynku jest redukcja plonów i zmniejszenie zawartości Zn w tkankach roślinnych. Przy ostrzejszych niedoborach, mniej więcej 3 tygodnie po siewie, dochodzi do zahamowania wzrostu roślin. Kolejne symptomy są różnie opisywane przez różnych autorów. Brannan [6] oraz Brennan i Bolland [7, 8] z Australii obserwowali na młodszych liściach podłużne jasne pasy po obu stronach nerwu głównego. Rośliny były blade i zamierały przed kwitnieniem. Cakmak i in. [12, 15] z Turcji stwierdzają, że na starszych liściach pojawiają się jasnobrązowe plamy, które przekształcają się w nekrotyczne uszkodzenia. W miarę pogłębiania się deficytu nekrotyczne uszkodzenia zajmują coraz większą powierzchnię w wyniku czego liście obwisają i wyglądają jak „przypalone”. Najmłodsze liście są blade i drobne, ale bez nekrotycznych uszkodzeń. U pszenicy twardej, wrażliwszej na brak Zn, objawy te występują w ostrzejszej formie niż u pszenicy chlebowej. Biorąc pod uwagę wcześniej opisywane różnicowanie odmianowe pszenicy w efektywności wykorzystania cynku można przypuszczać, że różne objawy wizualne niedoboru mogą być spowodowane właśnie różnicami odmianowymi.

## Diagnoza niedoborów cynku dla pszenicy

Obserwacje polowe wizualnych symptomów niedoboru nie są skuteczną metodą oceny zaopatrzenia pszenicy w cynk i dają pewne pozytywne wyniki jedynie przy znacznym deficycie cynku i dużej wprawie osoby przeprowadzającej ocenę. Przy tej metodzie zawsze zachodzi obawa popełnienia pomyłki, szczególnie że mniejsze niedobory nie dają wyraźnych i jednoznacznych objawów. Z tego powodu przy podejrzanym deficycie trzeba przeprowadzić test glebowy i/lub roślinny polegający na analizie chemicznej gleby lub rośliny. Podstawą testów jest wyznaczenie wartości krytycznych, do których porównuje się stwierdzone laboratoryjnie zawartości cynku w glebie lub tkankach roślinnych.



## Testy glebowe

Idealny test glebowy powinien być szybki, tani, powtarzalny i korespondujący z plonami roślin, zawartością cynku w roślinie lub jego pobraniem. Ideą testu glebowego jest ekstrakcja z gleby tzw. przyswajalnych dla roślin form cynku za pomocą odpowiedniego odczynnika chemicznego. Oznaczoną w ten sposób ilość cynku porównuje się z wartością krytyczną wyznaczoną eksperymentalnie. Zawartości Zn w glebie poniżej wartości krytycznej świadczą o deficycie i o potrzebie uzupełnienia tego składnika.

Do ekstrakcji z gleby przyswajalnych form cynku używa się w laboratoriach na świecie różnych roztworów ekstrakcyjnych. Najczęściej używanym ekstrahentem jest bez wątpienia DTPA, ale EDTA, AB-DTPA, Mehlich 1 i 0,1 M HCl są również często używane [1, 10].

Wartość krytyczna  $Zn_{DTPA}$  dla pszenicy zależy od rodzaju gleby. Według Cakmaka [11, 12] dla gleb węglanowych w Anatolii (Turcja) wynosi ona  $0,4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Alloway [1] podaje, że krytyczna zawartość  $Zn_{DTPA}$  przyjęta w Indiach dla pszenicy waha się od  $0,45$  do  $0,67 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  w zależności od rejonu i typu gleby. Ponadto Barman i in. [3] z Indii wyznaczyli  $1,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} Zn_{DTPA}$  jako wymaganą zawartość cynku w glebach bardzo ciężkich dla zmianowania pszenica-soja.

W Polsce do połowy lat 80. stacje chemiczno-rolnicze używały do oznaczania przyswajalnych form cynku w glebie roztworu 0,1 M HCl. Od 1986 w stacjach wprowadzono wspólną ekstrakcję mikroelementów, w tym również cynku, opartą na 1 M HCl. Oceny zawartości cynku w glebie dokonuje się przy użyciu wartości krytycznych (liczb granicznych) opracowanych dla tego ekstrahenta w Instytucie Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa [26, 77]. Wartości krytyczne zostały wyznaczone na podstawie zróżnicowanej kolekcji prób glebowych i roślinnych i wahają się od  $0,7$  do  $11,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  w zależności od składu granulometrycznego gleby.

Ciekawą metodę oceny zawartości cynku (i innych mikroelementów) bezpośrednio dostępnego dla roślin proponują Łabętowicz i Rutkowska [50]. Autorzy ci uważają, że analiza stężenia jonów cynku w roztworze glebowym wraz z tzw. „współczynnikiem odnawiania roztworu” może dostarczać informacji o potrzebach nawożenia tym składnikiem.

## Testy roślinne

Korzystną cechą testu roślinnego jest to, że dostarcza nam informacji o aktualnym stanie zaopatrzenia rośliny w cynk, stanie w momencie pobrania próbki. Zawartość składnika w roślinie jest wypadkową różnych czynników glebowych i właściwości samej rośliny, które mają wpływ na jego przyswajalność, stąd analiza roślinna powinna być bardziej miarodajna niż analiza glebowa. Test roślinny jednak nie zawsze zapewnia wiarygodną ocenę zapotrzebowania pszenicy na ten mikroelement. Zawartość Zn w tkankach roślinnych zależy, poza zasobnością gleby, również od części rośliny pobranej do analiz, od jej fazy rozwojowej i od uprawianej odmiany. Na

ogół uważa się, że zawartość cynku w tkankach spada wraz z wiekiem rośliny i że starsze liście zawierają go więcej niż młodsze. Wiadomo również, że cynk jest mniej ruchliwy wewnątrz roślin cierpiących na jego deficyt niż optymalnie zaopatrzonych [1]. W tabeli 1. przedstawiono krytyczne zawartości Zn w różnych częściach roślin i fazach rozwojowych. Zawartości te wahają się od 13 do 31 dla całych części nadziemnych i od 12 do 20  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  dla najmłodszych liści w zależności od fazy rozwojowej pszenicy i źródła literaturowego. Ponadto Rafique i Rashid [56] podkreślają, że zawartość Zn w dojrzałym ziarnie pszenicy jest bardzo dobrym wskaźnikiem stanu jej zaopatrzenia w cynk. Analizując dane z tabeli 1 można zauważyć, że ci sami autorzy w różnych swoich pracach proponują odmienne wartości krytyczne.

**Tabela 1.** Wartość krytyczna zawartości cynku w tkankach pszenicy [ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]

| Wartość krytyczna | Część rośliny     | Faza rozwojowa  | Uwagi             | Źródło |
|-------------------|-------------------|---|-------------------|--------|
| 13                | cała część nad.   | 50 dni po siewie                                      | Australia         | [8]    |
| 15                | cała część nad.   | początek kłoszenia                                    | jara; USA         | [39]   |
| 16–20             | cała część nad.   | 30 cm pędy  | Pakistan          | [56]   |
| 20                | cała część nad.   | 42 dniowe rośliny                                     | Australia         | [9]    |
| 20                | cała część nad.   | drugie kolanko/liść flagowy (7/8F)                    | ozima; Niemcy     | [4]    |
| 19–24*            | cała część nad.   | strzelanie w źdźbło (6F)                              | ozima; Polska     | [25]   |
| 25                | cała część nad.   | początek strzelania w źdźbło /pierwsze kolanko (5/6F) | ozima; Niemcy     | [4]    |
| 25                | cała część nad.   | 42-dniowe rośliny                                     | twarda; Australia | [7]    |
| 32                | cała część nad.   | 42-dniowe rośliny                                     | jara; Australia   | [7]    |
| 12                | najmłodsze liście | 42-dniowe rośliny                                     | Australia         | [9]    |
| 12–14             | najmłodsze liście | młode pędy  | Australia         | [6]    |
| 14                | najmłodsze liście | 42-dniowe rośliny                                     | jara; Australia   | [7]    |
| 12–16             | liść flagowy      | faza liścia flagowego                                 | Pakistan          | [56]   |
| 11–20             | dwa górne liście  | tuż przed kłoszeniem                                  | ozima             | [39]   |
| 20                | najmłodsze liście | 42-dniowe rośliny                                     | twarda; Australia | [7]    |
| 20–24             | ziarno            | pełna dojrzałość                                      | Pakistan          | [56]   |

\* Zakres występowania istotnych zwyżek plonów.

O małej przydatności testów roślinnych przekonani są tureccy badacze i z tego powodu w swoich pracach nie podają żadnych wartości krytycznych zawartości cynku w roślinach pszenicy. Prowadzone w Turcji badania nad zróżnicowaniem odmianowym pszenic wykazały bardzo duże różnice w tolerancji odmian na niedobór cynku. Wiąże się to ze zróżnicowaniem pobierania i transportu Zn wewnątrz rośliny, a tym samym ma znaczący wpływ na gromadzenie cynku w tkankach roślinnych. Według licznych tureckich badań zawartość Zn w pędach i liściach w żaden sposób nie koreluje z efektywnością wykorzystania (tolerancją na niedobór) tego pierwiastka przez pszenicę [11, 12, 15, 17]. Cakmak i Braun [12] tłumaczą to występowaniem zjawiska rozcieńczenia. W warunkach deficytu zwiększone pobranie cynku przez

odmiany tolerancyjne w stosunku do odmian o małej tolerancji powoduje znaczny wzrost biomasy tych pierwszych i korespondujący z tym spadek zawartości tego pierwiastka w ich tkankach. W wyniku tego rosnące na glebach niedoborowych w cynk odmiany wysoko tolerancyjne – o mniejszym zapotrzebowaniu na Zn – mogą charakteryzować się niższą zawartością tego pierwiastka w tkankach niż odmiany mało tolerancyjne na niedobór, czyli o większym zapotrzebowaniu.

## Korekta niedoborów cynku

Najczęściej stosowanym nawozem uzupełniającym niedobory cynku u pszenicy, zarówno w praktyce rolniczej [1, 11, 68], jak i w badaniach naukowych [7, 14, 15, 24, 25, 42, 44, 46, 79], jest siarczan cynku. Nawóz ten jest powszechnie stosowany ze względu na jego niski koszt, dobrą rozpuszczalność i łatwą dostępność na rynku. Oprócz siarczanu dość często stosuje się tlenek cynku i bardzo dobrze przyswajalne przez rośliny, ale kosztowne chelaty cynku. Z badań Spiak [66, 67] wynika, że forma siarczanowa cynku jest łatwo pobierana przez rośliny. Spośród sześciu badanych form najlepiej pobierany był cynk zastosowany w formie Zn-EDTA i  $\text{ZnSO}_4$ , a najgorzej w formie ZnO.

Brennan [6] podaje, że rolnicy w zachodniej Australii do uzupełnienia deficytu cynku u pszenicy powszechnie stosują tlenek cynku. W najnowszych badaniach Brennan i Bolland [8] wykazali, że na glebach kwaśnych ZnO jest równie dobrym źródłem cynku jak  $\text{ZnSO}_4$ , ale nawóz ten nie nadaje się na gleby alkaliczne. Na glebach alkalicznych forma siarczanowa była dwa razy bardziej skuteczna niż forma tlenkowa cynku.

Pewnym źródłem cynku dla roślin są nawozy fosforowe, a zwłaszcza superfosfat pojedynczy, który może zawierać relatywnie duże ilości Zn, nawet do  $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  [1, 6, 49]. Systematyczne stosowanie superfosfatu może dostarczać roślinom niewielkich ilości cynku, co może mieć znaczenie na glebach niedoborowych.

Cynk najczęściej stosuje się przedsięwzię, doglebowo rozsypując nawóz na powierzchni pola, a następnie mieszając go z glebą. Doglebowe dawki cynku dla pszenicy oscylują od 2 do  $23 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  Zn dla form nieorganicznych ( $\text{ZnSO}_4$ , ZnO) i od  $0,3\text{--}6 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  Zn dla form chelatowych. Wyższe dawki dotyczą gleb alkalicznych, niższe kwaśnych. W Turcji, gdzie niedobory Zn występują na glebach węglanowych, stosuje się zazwyczaj dawkę  $23 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  Zn w formie  $\text{ZnSO}_4$  [11, 15, 21, 22, 42, 75]. Badania australijskie donoszą o dawkach  $0,5\text{--}2,5 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ , na ogół  $1,5 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ , zalecanych na lekkie gleby kwaśne [5, 6]. Prace pakistańskie zalecają dawki w zakresie  $2\text{--}7,5 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  [54, 56], a indyjskie w zakresie  $2,3\text{--}5,5 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  Zn [55, 63, 64]. W Polsce przy stwierdzeniu niedoborów cynku Stanisławska-Głubiak i Korzeniowska [68] zalecają od  $8\text{--}12 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  Zn w zależności od rodzaju gleby.

Przy deficycie cynku w glebie nawożenie doglebowe trwale wzbogaca glebę w ten składnik. Wielu autorów podkreśla efekt następczy doglebowego stosowania

cynku, który może się utrzymywać przez kilka, a nawet kilkanaście lat. Grewal i Graham [31] oraz Sharma i Bhardwaj [63] stwierdzili dodatni wpływ doglebowej aplikacji cynku w drugim roku po nawożeniu. Faber [25] zaobserwował wzrost plonów pszenicy pod wpływem nawożenia cynkiem, który zastosowano 3 lata wcześniej. Brennan [6] wykazał utrzymywanie się efektu następczego nawożenia Zn przez 13 lat. W tym czasie działanie cynku dla pszenicy zmalało prawie o połowę. Ten sam autor [5] udowodnił działanie następcze dla pszenicy, nawet tak niewielkich ilości cynku, jakie wprowadza się do gleby wraz z superfosfatem pojedynczym.

Poza najczęściej stosowanym nawożeniem doglebowym, pszenicę można również nawozić cynkiem dolistnie w dawkach  $0,5\text{--}1,0 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  Zn [11, 46, 68]. Yilmaz i in. [76] porównywali różne metody aplikacji Zn: doglebową, dolistną i donasienną. W badaniach tych znaczne lepsze efekty, wyrażone wzrostem plonu pszenicy, uzyskano dla metody doglebowej niż dolistnej czy donasiennej.

## Reakcja pszenicy na nawożenie cynkiem

Reakcja pszenicy na nawożenie cynkiem, podobnie jak w przypadku innych mikroelementów, zależy nie tylko od zawartości jego dostępnych dla roślin form w glebie, ale również od przebiegu pogody, interakcji z innymi składnikami pokarmowymi, uprawianej odmiany, zastosowanej dawki i formy nawozu oraz sposobu jego aplikacji. Na ilość przyswajalnego dla roślin cynku w glebie główny wpływ ma całkowita jego zawartość oraz cały szereg takich cech gleby jak odczyn, zawartość węglanów, skład granulometryczny, substancja organiczna i inne. Według literatury uzyskiwane pod wpływem nawożenia cynkiem przyrosty plonów mogą się wahać od kilku do kilkuset procent (tab. 2). Największe przyrosty plonów pszenicy na skutek

**Tabela 2.** Zwyżki plonów ziarna pszenicy uzyskiwane pod wpływem doglebowego nawożenia cynkiem

| Wzrost plonów [%] | Zn w glebie [ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ] | Dawka Zn [ $\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ ] | Uwagi                        | Źródło |
|-------------------|--|---|------------------------------|--------|
| 31–554            | $\text{Zn}_{\text{DTPA}} < 0,15$                 | 23  | Turcja – różne gleby         | [21]   |
| 192–779           | $\text{Zn}_{\text{DTPA}} < 0,09$                 | 23  | Turcja – różne odmiany       | [5]    |
| 260               | $\text{Zn}_{\text{DTPA}} 0,12$                   | 23  | Turcja                       | [76]   |
| do 446            | ostry deficyt                                    | 23  | Turcja                       | [75]   |
| 8–76              | $\text{Zn}_{\text{DTPA}} 0,1$                    | 23  | Turcja – różne odmiany       | [42]   |
| 9–42              | $\text{Zn}_{\text{EDTA}} 0,3$                    | 40  | Iran – różne odmiany         | [44]   |
| 9–19              | —  | 2,5–10,0                                      | Pakistan – różne dawki Zn    | [54]   |
| 12                | $\text{Zn}_{\text{AB-DTPA}} 0,5$                 | 2   | Pakistan                     | [56]   |
| 14                | —  | 5   | Indie                        | [64]   |
| 38                | —  | 4,6   | Indie                        | [55]   |
| 19                | $\text{Zn}_{\text{DTPA}} 0,5$                    | 6   | Indie                        | [38]   |
| 1,8–8,4           | $\text{Zn}_{1 \text{ M HCl}} < 12\text{--}16$    | 5–20  | Polska – działanie następcze | [25]   |
| 3–17              | $\text{Zn}_{1 \text{ M HCl}} 5,0\text{--}18,8$   | 1– dolistnie                                  | Polska – różne dawki P       | [46]   |

aplikacji tego składnika występowały w Turcji, gdzie deficyt Zn jest szczególnie ostry. Według badań tureckich plony pszenicy nawożonej cynkiem mogą wzrastać nawet o 500–780% w stosunku do upraw bez nawożenia. Kilkudziesięciu procentowe przyrosty plonów uzyskiwano w Iranie i Indiach, a w pozostałych krajach wahały się one od kilku do kilkunastu procent. Badania ostatnich lat podkreślają duże zróżnicowanie odmian pszenicy w tolerancji na niedobór cynku. Wynikająca stąd różna reakcja poszczególnych odmian na nawożenie tym składnikiem jest ogromna i wzrost plonów może oscylować od 30 do ponad 500% w zależności od odmiany (tab. 2 [21]).

## Podsumowanie

Spośród wszystkich mikroelementów niedobory cynku najpoważniej ograniczają światową produkcję żywności pochodzenia roślinnego. Pierwiastek ten jest bowiem niezbędny roślinom, pełniąc szereg ważnych funkcji fizjologicznych w ich procesach metabolicznych. Deficyt cynku w glebie jest rozpowszechniony na wszystkich kontynentach i występuje w różnych warunkach klimatycznych i glebowych, powodując niedobory u ludzi i zwierząt żywiących się produktami z tych obszarów. Uważa się, że brak cynku, obok żelaza i jodu, jest głównym mikroelementowym problemem żywieniowym na świecie.

Chociaż pszenica nie jest zaliczana do gatunków szczególnie wrażliwych na brak Zn to niedobór tego pierwiastka jest jednym z poważniejszych ograniczeń w uprawie tej rośliny na świecie. Najwięcej doniesień o niedoborach Zn w uprawie pszenicy napływa z południowej Azji, Australii i Turcji, gdzie z powodu deficytu cynku w glebie plony mogą być ograniczane nawet o 50%. W ostatnich latach w badaniach światowych dotyczących pszenicy i cynku pojawił się nowy trend. Stwierdzenie dużego zróżnicowania odmianowego pszenicy w tolerancji na niedobory cynku spowodowało rozpoczęcie prac hodowlanych zmierzających do stworzenia nowych genotypów o dużej odporności na brak tego pierwiastka w podłożu. Genotypy te powinny charakteryzować wysoka efektywność wykorzystania cynku, czyli możliwość większego pobierania cynku z gleby, w sytuacji, gdy dla innych odmian jest on niedostępny.

Do oceny niedoborów cynku u pszenicy stosuje się testy glebowe lub testy roślinne. Najczęściej stosowanym w światowych laboratoriach testem glebowym jest ekstrakcja cynku za pomocą DTPA. Testy roślinne, które teoretycznie powinny dostarczyć informacji o aktualnym stanie zaopatrzenia rośliny w cynk, uważane są przez niektórych autorów za mało wiarygodne. Tureccy badacze wykazali, że zawartość Zn w pędach i liściach pszenicy zupełnie nie koreluje z efektywnością wykorzystania cynku (tolerancją na niedobór), co jest ich zdaniem dowodem na nieprzydatność tych testów. Podawane przez innych autorów, posługujących się testami roślinnymi, wartości krytyczne cynku w roślinach pszenicy obejmują szeroki zakres, w zależności od wieku rośliny, organu pobranego do analizy i ośrodka przeprowadzającego badania.

Przy deficycie Zn w glebie większość badaczy zaleca przedsięwzięte, dogłębne stosowanie cynku, podkreślając działanie następcze takiego zabiegu na kilka, a nawet kilkanaście lat. Najczęściej stosowanym nawozem jest siarczan cynku. Zalecane dawki pod pszenicę wahają się od 2 do 23 kg · ha<sup>-1</sup> w zależności od odczynu i rodzaju gleby. Reakcja pszenicy na nawożenie cynkiem zależy od wielu czynników, takich jak zawartość dostępnych form cynku w glebie, warunków hydrotermicznych, interakcji z innymi składnikami, głównie z fosforem oraz uprawianej odmiany. Uzyskane pod wpływem nawożenia przyrosty plonów ziarna mogą wahać się od kilku do kilkuset procent. Największa reakcja występuje u odmian pszenicy charakteryzujących się niską efektywnością wykorzystania cynku przy jego ostrym niedoborze w glebie.

W Polsce niedobór Zn nie jest najważniejszym problemem mikroelementowym. Szacuje się, że mamy w kraju 13–14% gleb o niskiej zawartości przyswajalnych form cynku, podczas gdy niedobory boru i miedzi sięgają kilkudziesięciu procent. Jednak pszenica uprawiana na glebach o wysokiej zasobności w fosfor lub nawożona wysokimi dawkami nawozów fosforowych może wymagać uzupełnienia cynku. Wiadomo, bowiem, że wzrost zawartości w tkankach roślinnych fosforu powoduje znaczne zwiększenie zapotrzebowania roślin na cynk, co może być powodem ograniczenia plonowania. Ponadto w świetle danych literaturowych, mówiących o olbrzymim zróżnicowaniu odmian pszenicy w wykorzystywaniu cynku celowe byłoby podjęcie badań dotyczących sprawdzenia czy uprawiane u nas odmiany pszenicy różnią się znacząco wykorzystaniem tego składnika.

## Literatura

- [1] Alloway B.J. 2004. Zinc in soils and crop nutrition. International Zinc Association, Brussels, Belgium: 1–129.
- [2] Arthur J.R. 2004. Micronutrients in the diet for human health and welfare. Proceedings 548, International Fertilisers Society, York, UK: 1–19.
- [3] Barman K.K., Ganeshamurthy A.N., Takkar P.N. 1998. Zinc requirement of soybean (*Glycine max*)–wheat (*Triticum aestivum*) cropping sequence in some swell–shrink soils. *Ind. J. Agri. Sci.* 68(12): 759–761.
- [4] Bergmann W. 1992. Nutritional disorders of plants – development, visual and analytical diagnosis. Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart, New York: 343–361.
- [5] Brennan R.F. 1996. Availability of previous and current applications of zinc fertilizer using single superphosphate for the grain production of wheat on soils of South Western Australia. *J. Plant Nut.* 19(7): 1099–1115.
- [6] Brennan R.F. 2001. Residual value of zinc fertiliser for production of wheat. *Aust. J. Exp. Agric.* 41(4): 541–547.
- [7] Brennan R.F., Bolland M.D.A. 2002. Relative effectiveness of soil–applied zinc for four crop species. *Aust. J. Exp. Agric.* 42: 985–993.
- [8] Brennan R.F., Bolland M.D.A. 2006. Zinc sulfate is more effective at producing wheat shoots than zinc oxide in an alkaline soil but both sources are equally effective in an acid soil. *Aust. J. Exp. Agric.* 46: 1615–1620.
- [9] Brennan R.F., Bolland M.D.A., Siddique K.H.M. 2001. Responses of cool-season grain legumes and wheat to soil-applied zinc. *J. Plant Nut.* 24(4/5): 727–741.
- [10] Bussink W., Temminghoff E. 2004. Soil and tissue testing for micronutrient status. Proceedings 548, International Fertilisers Society, York, UK: 1–42.
- [11] Cakmak I. 2004. Identification and correction of widespread zinc deficiency in Turkey – a success story. Proceedings 552, International Fertilisers Society, York, UK: 1–26.

- [12] Cakmak I., Braun H.-J. 2001. Genotypic variation for zinc efficiency. W: Application of physiology in wheat breeding. Reynolds M.P., Ortiz-Monasterio J.I., McNab A. (red.) Mexico, DF: CIMMYT: 183–199.
- [13] Cakmak I., Cakmak O., Eker S., Ozdemir A., Watanabe N., Braun H.J. 1999. Expression of high zinc efficiency of *Aegilops tauschii* and *Triticum monococcum* in synthetic hexaploid wheats. *Plant Soil* 215: 203–209.
- [14] Cakmak I., Derici R., Torun B., Tolay I., Braun H.J., Schlegel R. 1997. Role of rye chromosomes in improvement of zinc efficiency in wheat and triticale. *Plant Soil* 196(2): 249–253.
- [15] Cakmak I., Ekiz H., Yilmaz A., Torun B., Koleli N., Gultekin I., Alkan A., Eker S. 1997. Differential response of rye, triticale, bread and durum wheats to zinc deficiency in calcareous soils. *Plant Soil* 188: 1–10.
- [16] Cakmak I., Kalayci M., Ekiz H.J., Braun Y., Kilinc Y., Yilmaz A. 1999. Zinc deficiency as a practical problem in plant and human nutrition in Turkey: A NATO science for stability project. *Field Crop Res.* 60(1–2): 175–188.
- [17] Cakmak O., Ozturk L., Karanlik S., Ozkan H., Kaya Z., Cakmak I. 2001: Tolerance of 65 durum wheat genotypes to zinc deficiency in a calcareous soil. *J. Plant Nut.* 24(11): 1831–1847.
- [18] Cakmak I., Sari N., Marschner H., Ekiz H., Kalayci M., Yilmaz A., Braun H.J. 1996. Phytosiderophore release in bread and durum wheat genotypes differing in zinc efficiency. *Plant Soil* 180: 183–189.
- [19] Cakmak I., Tolay I., Ozdemir A., Ozkan H., Ozturk L., Kling C.I. 1999. Differences in zinc efficiency among and within diploid, tetraploid and hexaploid wheats. *Ann. Bot.* 84(2):163–171.
- [20] Cakmak I., Torun B., Erenoglu B., Ozturk L., Marschner H., Kalayci M., Ekiz H., Yilmaz A. 1998. Morphological and physiological differences in the response of cereals to zinc deficiency. *Euphytica* 100(1–3): 349–357.
- [21] Cakmak I., Yilmaz A., Kalayci M., Ekiz H., Torun B., Erenoglu B., Braun H.J. 1996. Zinc deficiency as a critical problem in wheat production in Central Anatolia. *Plant Soil* 180: 165–172.
- [22] Erdal I., Yilmaz A., Taban S., Eker S., Torun B., Cakmak I. 2002. Phytic acid and phosphorus concentrations in seeds of wheat cultivars grown with and without zinc fertilization. *J. Plant Nut.* 25(1): 113–127.
- [23] Erenoglu B., Cakmak I., Romheld V., Derici R., Rengel Z. 1999. Uptake of zinc by rye, bread wheat and durum wheat cultivars differing in zinc efficiency. *Plant Soil* 209(2): 245–252.
- [24] Erenoglu B., Nikolic M., Römheld V., Cakmak I. 2002. Uptake and transport of foliar applied zinc (65Zn) in bread and durum wheat cultivars differing in zinc efficiency. *Plant Soil* 241: 251–257.
- [25] Faber A. 1992. Bezpośrednie i następcze działanie nawożenia borem, miedzią, molibdenem i cynkiem w zmianowaniu czteropolowym. *Wyd. IUNG Puławy* H (2): 1–81.
- [26] Gembarzewski H., Korzeniowska J. 1996. Wybór metody ekstrakcji mikroelementów z gleby i opracowanie liczb granicznych przy użyciu regresji wielokrotnej. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 434: 353–364.
- [27] Genc Y., McDonald G.K. 2004. The potential of synthetic hexaploid wheats to improve zinc efficiency in modern bread wheat. *Plant Soil* 262: 23–32.
- [28] Genc Y., McDonald G.K., Graham R.D. 2006. Contribution of different mechanisms to zinc efficiency in bread wheat during early vegetative stage. *Plant Soil* 281: 353–367.
- [29] Graham R.D. 1984. Breeding for nutritional characteristics in cereals. *Adv. Plant Nutr.* 1: 57–102.
- [30] Graham R.D., Ascher J.S., Hynes S.C. 1992. Selecting zinc-efficient cereal genotypes for soils of low zinc status. *Plant Soil* 146(1–2): 241–250.
- [31] Grewal H.S., Graham R.D. 1999. Residual effects of subsoil zinc and oilseed rape genotype on the grain yield and distribution of zinc in wheat. *Plant Soil* 207: 29–36.
- [32] Haslett B.S., Reid R.J., Rengel Z. 2001. Zinc mobility in wheat: Uptake and distribution of zinc applied to leaves or roots. *Ann. Bot.* 87(3): 379–386.
- [33] Imtiaz M., Alloway B.J., Khan P., Memon M.Y., Siddiqui S., Aslam M., Shah S.K.H. 2006. Zinc deficiency in selected cultivars of wheat and barley as tested in solution culture. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 37(11–12): 1703–1721.
- [34] Imtiaz M., Alloway B.J., Memon M.Y., Khan P., Siddiqui S.H., Aslam M., Shah S.K.H. 2006. Zinc tolerance in wheat cultivars as affected by varying levels of phosphorus. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 37(11–12): 1689–1702.
- [35] Imtiaz M., Alloway B.J., Shah K.H., Siddiqui S.H., Memon M.Y., Aslam M., Khan P. 2003. Zinc contents in the seed of some domestic and exotic wheat genotypes. *Asian J. Plant Sci.* 2(15): 1118–1120.
- [36] Imtiaz M., Alloway B.J., Shah K.H., Siddiqui S.H., Memon M.Y., Aslam M., Khan P. 2003. Zinc nutrition of wheat: I. growth and zinc uptake. *Asian J. Plant Sci.* 2(2): 152–155.
- [37] Imtiaz M., Alloway B.J., Shah K.H., Siddiqui S.H., Memon M.Y., Aslam M., Khan P. 2003. Zinc nutrition of wheat: II: Interaction of zinc with other trace elements. *Asian J. Plant Sci.* 2(2): 156–160.

- [38] Jain N.K., Dahama A.K. 2006. Phosphorus and zinc requirements of wheat under wheat (*Triticum aestivum*) pearl millet (*Pennisetum glaucum*) cropping system. *Arch. Agr. Soil Sci.* 52(6): 645 – 653.
- [39] Jones J.B., Wolf B., Mills H.A. 1991. Plant Analysis Handbook – Micro-Macro Publishing Inc., Georgia, USA: 1–213.
- [40] Kabata-Pendias A., Pendias H. 1999. Biogeochemia pierwiastków śladowych. PWN Warszawa: 1–398.
- [41] Kabata-Pendias A., Pendias H. 2001. Trace elements in soils and plants. CRC Press, Boca Raton, Fla., USA: 1–413.
- [42] Kalayci M., Torun B., Eker S., Aydin M., Ozturk L., Cakmak I. 1999. Grain yield, zinc efficiency and zinc concentration of wheat cultivars grown in a zinc-deficient calcareous soil in field and greenhouse. *Field Crop Re.* 63(1): 87–98.
- [43] Katyal J.C., Randhawa N.S. 1983. Micronutrient. *FAO Fertilizer Plant Nutrition Bull.* 1: 1–82.
- [44] Khoshgoftarmaraneh A.H., Shariatmadari H., Karimian N., Kalbasi M., Khajehpour M.R. 2005. Zinc efficiency of wheat cultivars grown on a saline calcareous soil. *J. Plant Nut.* 27(11): 1953–1962.
- [45] Kirkby A.E., Romheld V. 2004. Micronutrients in plants physiology: functions, uptake and mobility. Proceedings 543, International Fertilisers Society, York, UK: 1–52.
- [46] Krauze A. 1996. Wpływ nawożenia cynkiem na plony i jakość ziarna pszenicy ozimej w zależności od dawki i sposobu nawożenia fosforem. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 434: 185–191.
- [47] Kucharzewski A., Dębowski M. 2000. Odczyn i zawartość mikroelementów w glebach Polski. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 471: 627–635.
- [48] Li H.Y., Zhu Y.G., Smith S.E., Smith F.A. 2003. Phosphorus-zinc interactions in two barley cultivars differing in phosphorus and zinc efficiencies. *J. Plant Nutr.* 26(5): 1085–1099.
- [49] Loneragan J.F., Webb M.J. 1993. Interactions between Zn and other nutrients affecting the growth of plants. W: Zinc in soils and plants. A.D. Robson (red.), Kluwer Academic Publisher, Dordrecht: 119–151.
- [50] Łabętowicz J., Rutkowska B. 2000. Próba wykorzystania składu chemicznego roztworu glebowego w diagnostyce nawożenia mikroelementami. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 471: 45–51.
- [51] Łabętowicz J., Rutkowska B. 2000. Zmienność stężenia mikroelementów w roztworze glebowym w warunkach trwałego doświadczenia nawozowego. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 471: 113–119.
- [52] Morgounov A., Gomez-Becerra H.F., Abugalieva A., Dzhunusova M., Yessimbekova M., Muminjanov H., Zelenskiy Y., Ozturk L., Cakmak I. 2007. Iron and zinc grain density in common wheat grown in Central Asia. *Euphytica* 155: 193–2003.
- [53] Obojski J., Straczyński S. 1995. Odczyn i zasobność gleb polskich w makro- i mikroelementy. Wyd. IUNG Puławy: 1–40.
- [54] Pervaiz Z., Hussain K., Kazmi S.S.H., Akhter B. 2003. Zinc requirement of barani wheat. *Asian J. Plant Sci.* 2(11): 841–843.
- [55] Prasad B., Sharma M.M., Sinha S.K. 2002. Evaluating zinc fertilizer requirement on typical haplaquent in the rice-wheat cropping system. *J. Sustain. Agr.* 19(3): 39–49.
- [56] Raffique E., Rashid A., Ryan J., Bhatti A.U. 2006. Zinc deficiency in rainfed wheat in Pakistan: magnitude, spatial variability, management, and plant analysis diagnostic norms. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 37(1–2): 181–197.
- [57] Rengel Z., Graham R.D. 1995. Wheat genotypes differ in Zn efficiency when grown in chelate-buffered nutrient solution. I. *Growth. Plant Soil* 176: 307–316.
- [58] Rengel Z., Römheld V. 2000. Differential tolerance to Fe and Zn deficiencies in wheat germplasm. *Euphytica* 113: 219–225.
- [59] Rengel Z., Römheld V. 2000. Root exudation and Fe uptake and transport in wheat genotypes differing in tolerance to Zn deficiency. *Plant Soil* 222: 25–34.
- [60] Riesen O., Urs Feller U. 2005. Redistribution of nickel, cobalt, manganese, zinc, and cadmium via the phloem in young and maturing wheat. *J. Plant Nut.* 28(3): 421–430.
- [61] Ruel M.T., Bouis H.E. 1998. Plant breeding: a long-term strategy for the control of zinc deficiency in vulnerable populations. *Am. J. Clin. Nutr.* 68(suppl): 488–494.
- [62] Ruzkowska M., Wojcieszka-Wyskupajty U. 1996. Mikroelementy – fizjologiczne i ekologiczne aspekty ich niedoborów i nadmiarów. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 434: 1–11.
- [63] Sharma C.M., Bhardwaj S.K. 1998. Effect of phosphorus and zinc fertilization on yield and nutrient uptake in wheat and their residual effect on soybean. *Indian J. Agron.* 43(3): 426–430.
- [64] Sharma P.K., Yadav G.L., Sharma B.L., Kumar S. 2000. Response of wheat (*Triticum aestivum*) to nitrogen and zinc fertilization. *Indian J. Agron.* 45(1): 124–127.
- [65] Sillanpää M. 1990. Micronutrient assessment at the country level: an international study. *FAO Soils Bulletin, Rome* 63: 1–208.



- [66] Spiak Z. 1993. Badania nad określeniem szkodliwej dla roślin uprawnych zawartości cynku w glebach. *Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu*, Rozprawa hab. 121: 1–88.
- [67] Spiak Z. 1996. Wpływ formy chemicznej cynku na pobieranie tego pierwiastka przez rośliny. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.* 434: 997–1003.
- [68] Stanisławska-Głubiak E., Korzeniowska J. 2007. Zasady nawożenia mikroelementami roślin uprawnych. *Studia i Raporty IUNG-PIB* 8: 99–110.
- [69] Takkar P.N., Walker C.D. 1993. The distribution and correction of zinc deficiency. W: *Zinc in Soils and Plants*. A.D. Robson (red.) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands: 151–166.
- [70] Torun B., Bozbay G., Gultekin L., Braun H.J., Ekiz H., Cakmak I. 2000. Differences in shoot growth and zinc concentration of 164 bread wheat genotypes in a zinc-deficient calcareous soil. *J. Plant Nut.* 23: 1251–1265.
- [71] Webb M.J., Loneragan J.F. 1990. Zinc translocation to wheat roots and its implications for a phosphorus/zinc interaction in wheat plants. *J. Plant Nut.* 13: 1499–1512.
- [72] Welch R.M., Graham R. 2004. Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. *J. Exp. Bot.* 55: 353–364.
- [73] Welch R.M., Hart J.J., Norvell W.A., Sullivan L.A., Kochian L.V. 1999. Effects of nutrient solution zinc activity on net uptake, translocation, and root export of cadmium and zinc by separated sections of intact durum wheat (*Triticum turgidum* L. var *durum*) seedling roots. *Plant Soil* 208: 243–250.
- [74] White J.G., Zasoski R.H. 1999. Mapping soil micronutrients. *Field Crops Res.* 60: 11–26.
- [75] Yilmaz A., Ekiz H., Gültekin I., Torun B., Barut H., Karanlık S., Cakmak I. 1998. Effect of seed zinc content on grain yield and zinc concentration of wheat grown in zinc-deficient calcareous soils. *J. Plant Nutr.* 21: 2257–2264.
- [76] Yilmaz A., Ekiz H., Torun B., Gultekin I., Karanlık S., Bağcı S.A., Cakmak I. 1997. Effect of different zinc application methods on grain yield and zinc concentration in wheat cultivars grown on zinc-deficient calcareous soils. *J. Plant Nut.* 20(4/5): 461–471.
- [77] Zalecenia nawozowe. 1990. Praca zbiorowa. Cz. I. Liczby graniczne do wyceny w glebach makro- i mikroelementów. IUNG Puławy: 1–44.
- [78] Zhu Y.-G., Smith S.E., Smith F.A. 2001. Zinc (Zn)-phosphorus (P) interactions in two cultivars of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) differing in P uptake efficiency. *Ann. Bot.* 88: 941–945.
- [79] Zhu Y., Zhao Z.Q., Li H., Smith S.E., Smith F.A. 2003. Effect of zinc-cadmium interactions on the uptake of zinc and cadmium by winter wheat (*Triticum aestivum*) grown in pot culture. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 71: 1289–1296.

## The role of zinc in wheat cultivation

**Key words:** wheat, zinc, world deficiency, sensitivity to Zn deficiency, genotypic variation, diagnosis of fertilizer requirements, Zn rates, Zn:P interaction

### Summary

Paper reviewed the research results in world literature on zinc requirements for wheat, emphasizing on the newest reports. Several issues were discussed in this review, such as: occurrence of zinc deficiency in the world and in Poland, uptake and transport of zinc in plants, zinc interaction with other nutrients, wheat sensitivity to the lack of zinc and genotypic differences in zinc efficiency in wheat. Paper focused mostly on the diagnosis of Zn deficiency for wheat, taking into consideration both, soil tests and plant tests. Moreover, the sources and rates of zinc fertilizers application were reviewed, together with their residual value and wheat response to zinc fertilization.



## **Mikroflora ziaren zbóż i metody redukcji skażenia mikrobiologicznego\***

***Magdalena Broda, Włodzimierz Grajek***

*Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności,*

*Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu,*

*ul. Wojska Polskiego 48, 60-627 Poznań*

*e-mail: mbroda@up.poznan.pl; grajek@up.poznan.pl*

**Słowa kluczowe:** mikroflora zbóż, zakażenia mikrobiologiczne zbóż, mikotoksyny, redukcja zakażeń mikrobiologicznych

### **Wstęp**

W ostatnich latach coraz większą uwagę zwraca się na mikroflorę zbóż. Wynika to w dużej mierze z wyższych norm jakościowych oraz oczekiwań przemysłu. Wprowadzenie na rynek chleba pełnoziarnistego, produkcja kielków zbożowych i zwiększenie frakcji otrębowej w różnych produktach zbożowych znacznie podniosło wymogi higieniczne w stosunku do zbóż. Nadchodzi także rewolucja w produkcji etanolu, szczególnie na cele paliwowe. Pojawienie się na rynku nowych preparatów enzymatycznych, zdolnych do scukrzania skrobi bez jej uprzedniego kleikowania i upłynnienia w wysokiej temperaturze, jak to robiono dotychczas w tradycyjnym gorzelnictwie, radykalnie zwiększa wymagania dotyczące jakości mikrobiologicznej zbóż.

### **Mikroflora zbóż**

Ilość i jakość mikroorganizmów występujących na ziarnie zależy od wielu czynników, takich jak rodzaj zboża, miejsce uprawy czy warunki klimatyczne. Choć wiadomo, że ciepła i wilgotna pogoda, szczególnie w czasie zbiorów, sprzyja dużemu zanieczyszczeniu ziarna mikroorganizmami, jednak również w chłodniejszych i bardziej suchych strefach klimatycznych zboża narażone są na skażenie.

---

\* Praca została napisana w ramach projektu PBZ/MNiSW/07/2006/18.

Mikroflorę zasiedlającą ziarno podzielić można na polową oraz wglębną. Mikroflora polowa to głównie mikroflora powierzchniowa (epifityczna). Należą do niej zarówno bakterie, jak również drożdże i grzyby, z których jedynie niewielka część może wnikać wglęb zdrowego ziarna i powodować jego uszkodzenie. Mikroflorę wglębną stanowią te drobnoustroje, które wnikają pod okrywą ziarna i mogą powodować jego psucie (rozwijają się głównie w czasie przechowywania zboża) [50].

**Bakterie.** Liczebność mikroflory występującej na ziarnie zbóż szacuje się na  $5 \times 10^3$  do  $1,6 \times 10^6$  jtk  $\cdot$  g<sup>-1</sup>. Głównym źródłem zakażenia materiału roślinnego na polu jest gleba, której cząsteczki wraz z zasiedlającymi je bakteriami wzbijają się w powietrze podczas prac polowych, wiatru czy deszczu, a następnie osadzają się na roślinach uprawnych, przenosząc na nie swoistą mikroflorę, która może mieć różny skład w zależności od właściwości danego rodzaju gleby [25]. Główne rodzaje bakterii występujące w glebie, a co za tym idzie zakażające również ziarno na polu, scharakteryzował w 1997 roku Alexander. Proporcje między poszczególnymi grupami mikroorganizmów w próbce gleby kształtują się następująco: *Alcaligenes* (2–12%), *Agrobacterium* (do 20%), *Arthrobacter* (5,5%–60%), *Bacillus* (7–67%), *Flavobacterium* (2–10%), *Pseudomonas* (3–15%) [6]. W glebie wykryto również gramujemne szczepy *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Actinomycetes*, *Azotobacter*, *Moraxella* oraz Gram-dodatnie szczepy *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Streptomyces* oraz *Streptococcus* [48].

Wśród mikroflory bakteryjnej, zakażającej ziarna zbóż, mogą występować także gatunki patogenne, stanowiące zagrożenie dla zdrowia zwierząt i ludzi. Do gatunków takich zaliczyć można: *Clostridium perfringens* (VEILLON & ZUBER) HAUDUROY et al. i *Clostridium botulinum* VAN ERMENGEM, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* ESCHERICH, *Salmonella* spp., *Campylobacter*, *Bacillus anthracis* COHN czy *Mycobacterium* spp. [25].

W Polsce na ziarnie zbóż najczęściej występują bakterie należące do rodzajów: *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Lactobacillus* i *Bacillus*. Psychrotrofy występują w ilości  $10^4$ – $10^5$   $\cdot$  g<sup>-1</sup>, promieniowce zwykle przekraczają poziom  $10^6$   $\cdot$  g<sup>-1</sup>, tlenowe laseczki przetrwalnikujące obecne są w ilości  $10$ – $10^6$   $\cdot$  g<sup>-1</sup>. Sporadycznie występują bakterie katalazoujemne, okazjonalnie na ziarnie mogą się znajdować także *Clostridium perfringens* i *Clostridium botulinum* (powszechnie występujące w glebie). Prawie 90% mikroflory bakteryjnej na ziarnie zbóż stanowią saprofity, głównie z rodzaju *Pseudomonas* (pałeczki G). Nielicznie występujące tlenowe laseczki przetrwalnikujące z rodzaju *Bacillus* stanowią zagrożenie dla przetworów zbożowych [49]. Z badań przeprowadzonych na terenie Polski wynika, że zakażenie bakteryjne ziarna pszenicy jest różne w różnych częściach kraju i wynosi od  $4 \times 10^5$   $\cdot$  g<sup>-1</sup> w rejonach centralnych nawet do  $3,9 \times 10^6$   $\cdot$  g<sup>-1</sup> w rejonach południowych, średnio  $1,9 \times 10^6$   $\cdot$  g<sup>-1</sup> [32].

W czasie przechowywania ziarna we właściwych warunkach, gdy jego wilgotność obniża się, większość bakterii wymiera i ilość ich spada często poniżej 1000 komórek na 1 g. W czasie omłotu obserwowano zwiększenie liczby bakterii, natomiast podczas procesu bielienia mąki – znaczną ich redukcję [32].

**Grzyby.** Grzyby występujące na ziarnie zbóż podzielić można na grzyby polowe oraz grzyby przechowalniane. Do grzybów polowych należą głównie niepatogenne gatunki z rodzajów *Alternaria*, *Absidia*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Diplodia*, *Phaeoramularia* i *Rhizopous* oraz patogenne *Fusarium* i *Helminthosporium* [7, 25]. Grzyby te zakażają ziarno jeszcze na polu lub po zbiorach, lecz przed omłotem. Rozwijają się, gdy wilgotność ziarna wynosi 22–25% (aktywność wody 0,95 lub więcej). Jeśli ziarno po zbiorach przechowywane jest w nieodpowiednich warunkach (duża wilgotność, wysoka temperatura) i pozostaje wilgotne, grzyby rozwijają się i mogą powodować ciemnienie lub pomarszczenie ziarna oraz osłabienie lub zamieranie zarodka. Ponieważ grzyby należące do mikroflory polowej mają stosunkowo niską aktywność enzymatyczną, gdy ziarno przechowywane jest we właściwych warunkach umożliwiających spadek jego wilgotności poniżej 13%, powoli wymierają. Niektóre badania wskazują, że zanikanie grzybów polowych może być spowodowane także antagonizującym działaniem niektórych bakterii (szczególnie laseczek *Bacillus*), a także grzybów przechowalnianych, rozwijających się w trakcie niewłaściwego przechowywania zboża [25]. Na rozwój grzybów polowych w czasie przechowywania ziarna ma wpływ wilgotność, temperatura, skład powietrza, interakcje z innymi gatunkami grzybów, interakcje z owadami i gryzoniami żyjącymi w magazynach, a także odporność ziarna na skażenie grzybami. Na ziarnie kukurydzy często występuje *Aspergillus flavus* LINK, *A. parasiticus* SPEARE, *Fusarium graminearum* SCHWABE, *F. verticillioides* (SACC.) NIRENBERG, *Penicillium* spp. oraz *Diplodia maydis* (BERK.) [22]. Z kolei jęczmień zwykle atakowany jest przez *Alternaria alternata* (FR.) KEISSEL, *A. candidus* LINK, *A. flavus*, *A. niger* VAN TIEGHEM, *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium* spp., *Eurotium* spp., *Fusarium* spp., *Mucor* spp., *Paecilomyces* spp., *Penicillium* spp., *Phoma sorghina* (SACC.) BOEREMA DORENBOSCH & VAN KEST [35]. Ziarno ryżu zarażane jest często przez różne gatunki *Penicillium*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. parasiticus* oraz *Fusarium semitectum* BERK. & RAVENEL [22].

Do grzybów przechowalnianych zalicza się niektóre gatunki *Aspergillus*, *Candida*, *Chaetomium*, *Hansenula*, *Penicillium*, *Mucor* i *Acinomyces* [25]. Należy jednak podkreślić, że podział na grzyby polowe i przechowalniane jest umowny i opiera się głównie na wymaganiach wilgotnościowych. Najliczniej reprezentowane są grzyby z rodzaju *Aspergillus*. Na ziarnie występuje około 26 gatunków stanowiących 5–6 grup o ściśle określonym minimum wilgotnościowym, poniżej którego nie rosną. Generalnie grzyby te rozwijają się przy wilgotności ziarna nawet poniżej 17% i rosną najlepiej w klimacie ciepłym, chociaż zakres temperatur dla grzybów jest bardzo szeroki i wynosi od –8°C do 58°C.

Drugą powszechnie występującą na ziarnie grupą grzybów są różne gatunki *Penicillium*. Rozwijają się one na ziarnie o wilgotności powyżej 17%, lepiej rosną w niższej temperaturze i występują częściej na ziarnie w klimacie umiarkowanym. Badania przeprowadzone na terenie kraju dotyczące mikrobiologicznego zakażenia ziarna pszenicy i produktów jej przemiału wskazują, że w różnych rejonach kraju

stopień zakażenia jest różny i waha się w granicach  $4,0\text{--}7,3 \times 10^3 \cdot \text{g}^{-1}$ . W większości badanych prób czyszczenie i kondycjonowanie ziarna redukowało ilość pleśni o ponad 75% [45]. Inne badania prowadzone w różnych rejonach Polski pozwoliły na zidentyfikowanie poszczególnych gatunków pleśni *Aspergillus* i *Penicillium*. Stwierdzono także, że najliczniejszą grupę stanowią przedstawiciele *Aspergillus*, w tym grupa *A. glaucus*, natomiast rodzaj *Penicillium* stanowił zaledwie 6% wszystkich grzybów, był jednakże znacznie bardziej zróżnicowany pod względem liczby gatunków [49].

Oprócz wymienionych grzybów ziarno zbóż często zakażane jest też przez dzikie gatunki drożdży. Badania przeprowadzone na próbach ziarna pszenicy pochodzących z młynów z różnych części Polski wykazały, że skażenie sporami drożdży kształtowało się średnio na poziomie  $4000 \cdot \text{g}^{-1}$ . Wyjątek stanowiło ziarno z rejonów północnej Polski, gdzie skażenie było znacznie wyższe i dochodziło nawet do  $7300 \cdot \text{g}^{-1}$  [32].

## Psucie ziarna w trakcie przechowywania

W czasie magazynowania psucie zbóż powodują głównie grzyby przechowalnia-  
ne. Stanowią one mikroflorę wgłębną, wnikają pod pokrywą nasienną i psują ziarno. Głównym źródłem zakażenia zbóż w magazynach, elewatorach i młynach jest kurz, w którego cząsteczkach przenoszone są zarodniki pleśni oraz komórki bakteryjne. Także owady i gryzonie stanowią źródło zakażeń mikrobiologicznych, przenosząc drobnoustroje w różne partie składowanego ziarna.

Na rozwój mikroflory przechowalnianej ogromny wpływ mają warunki przechowywania zboża. Utrzymując odpowiednią temperaturę, natlenienie i wilgotność można zahamować rozwój pleśni, drożdży i bakterii na przechowywanym ziarnie. Pleśnie nie rosną zwykle w temperaturze poniżej  $5\text{--}6^\circ\text{C}$  oraz przy aktywności wody  $a_w$  poniżej 0,70. Natlenienie nie jest istotnym parametrem dla kontroli ich rozwoju. Niektóre grzyby mogą dobrze rosnąć przy małym stężeniu tlenu, a dużej zawartości  $\text{CO}_2$ . W warunkach beztlenowych na ziarnie mogą się także rozwinąć bakterie fermentacji mlekowej i octowej, wytwarzające kwasy organiczne i obniżające pH, co działa hamująco na rozwój grzybów i drożdży [15].

Rozwój grzybów przechowalnianych prowadzić może do uszkodzenia zarodka, obniżenia zdolności kiełkowania, zmiany barwy i zapachu, a także do samozagrzewania się ziarna. Zjawisko samozagrzewania ziarna zależy od wielu czynników środowiskowych, określających możliwość wzrostu poszczególnych gatunków mikroorganizmów. Generalnie drobnoustroje podnoszą temperaturę do takiej wartości, jaka jest odpowiednia dla ich przeżycia, np. *Aspergillus candidus* i *Aspergillus flavus* podnoszą temperaturę do  $50\text{--}55^\circ\text{C}$ , grzyby termofilne do  $60\text{--}65^\circ\text{C}$ , bakterie termofilne do  $70\text{--}75^\circ\text{C}$  i mogą ją utrzymywać nawet przez kilka tygodni.

Pod wpływem mikroflory przechowalnianej może dochodzić do hydrolizy tłuszczów zawartych w ziarnie, co powoduje wzrost kwasowości tłuszczowej (jest to

parametr stosowany w ocenie jakości ziarna), mogą następować zmiany biochemiczne zboża, powodując obniżenie jego wartości odżywczej, rozwój grzybów może spowodować także zwiększenie intensywności oddychania ziarna, co prowadzi do strat w masie o 1–2%, rozwój bakterii z kolei prowadzić może do powstania kwaśnego lub gnilnego zapachu.

## Konsekwencje skażenia mikrobiologicznego ziaren zbóż

Zboże jest ważnym surowcem do produkcji różnego rodzaju żywności. W niektórych przypadkach może być spożywane przez człowieka w formie nieprzetworzonej (ryż). Ponadto jest głównym składnikiem pasz dla zwierząt, dlatego też istotne jest, by nie zawierało szkodliwych mikroorganizmów, ani wytwarzanych przez nie toksyn.

Istnieje grupa mikroorganizmów skażających zboże, która choć nie stanowi bezpośredniego zagrożenia dla zdrowia i życia ludzi, psuje produkty otrzymywane z ziarna, uniemożliwiając ich spożycie i powodując straty. Na przykład, laseczki *B. subtilis* (EHRENBERG) COHN i *B. licheniformis* (WEIGMANN) CHESTER powodują śluzowacenie pieczywa pszennego, grzyby strzępkowe są przyczyną pleśnienia pieczywa, różnego rodzaju bakterie i grzyby wywołują powstawanie różnokolorowych plam na pieczywie, czemu towarzyszy często nieprzyjemny zapach. Obecność bakterii beztlenowych na ziarnie przeznaczonym do fermentacji może powodować znaczne obniżenie wydajności procesu, pogorszenie jakości uzyskiwanego produktu, a co za tym idzie znaczące straty.

Wiele gatunków pleśni wydziela toksyczne związki, zwane mikotoksynami. Niektóre z nich są tak odporne, że nie można ich usunąć nawet w trakcie przetwarzania żywności. Mikotoksyny należą do drugorzędowych metabolitów grzybów. Są szkodliwe dla zwierząt i człowieka, odpowiadają za obniżenie jakości zakażonego grzybami ziarna oraz wywołują wiele groźnych schorzeń zwierząt hodowlanych i ludzi. Zawartość mikotoksyn w ziarnie zależy od warunków klimatycznych, gatunku zboża, warunków zbioru i przechowywania zbóż. Problem skażenia mikotoksynami dotyczy upraw zbóż na całym świecie [39].

Każda grupa grzybów wytwarza charakterystyczne dla siebie związki. Grzyby z rodzaju *Fusarium* produkują głównie zearalenon, fumonizyny, deoksynivalenol oraz toksyny trichotecynowe (w tym toksynę T2, womitotoksynę, dwuacetoooksy-scirpenol). Toksyny te mogą wywoływać u ludzi i zwierząt biegunkę, wymioty, anoreksję wywołaną stanem zapalnym jelita cienkiego, działają niszcząco na komórki wątroby i układu nerwowego, mogą prowadzić do powstania nowotworów przełyku, nerek i wątroby, obrzęku płuc oraz dystrofii mięśni [14]. Grzyby z rodzaju *Penicillium* produkują głównie patulinę oraz cytryninę, które są neurotoksynami, a także zaburzają pracę wątroby i nerek [46].

Do toksyn produkowanych przez przedstawicieli rodzaju *Aspergillus* należą aflatoksyny i ochratoksyny. Są one bardzo silnymi kancerogenami, powodują wady rozwoju płodu, zaburzenia nerek i układu immunologicznego [46].

Istnieje także grupa grzybów, której obecność na ziarnie stanowi zagrożenie zdrowia nie tylko ze względu na produkcję mikotoksyn. Za najbardziej patogenny gatunek występujący na ziarnie uważa się *Aspergillus fumigatus* FRESENIUS, który wywołać może między innymi grzybicę płuc. Zarodniki grzybów znajdujące się w powietrzu u osób z nadwrażliwością mogą powodować objawy uczuleniowe ze strony układu oddechowego, katar alergiczny czy zapalenie spojówek. Najczęściej występującym alergenami są zarodniki *A. fumigatus*, *Cladosporium*, *Alternaria* i *Penicillium*. Alergie takie występują najczęściej u osób mających zawodowo kontakt ze skażonym materiałem, np. u osób pracujących w magazynach zbożowych czy młynach.

Spośród patogenów bakteryjnych na ziarnie występować mogą G(-) pałeczki z rodzaju *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella* i *Escherichia*. Ich źródłem mogą być owady, gryzonie, ptaki oraz ludzie. Do zakażenia zboża tymi patogenami może dojść jeszcze na polu, w czasie transportu lub w czasie przechowywania, większość z nich usuwana jest podczas procesów mycia i czyszczenia ziarna. Na ziarnie przechowywanym w odpowiednich warunkach patogeny te są nieaktywne, a liczba ich spada, jednak w krajach, gdzie spożywa się surowe ziarno, mogą stanowić zagrożenie. Osoby spożywające ryż i potrawy z ryżu narażone są z kolei na zatrucia pokarmowe wywołane laseczką *Bacillus cereus* (RASMUSSEN et al., THOMPSON. & MALAMY).

## Sposoby redukcji zakażeń zbóż

### Redukcja zakażeń bakteryjnych

Najskuteczniejszym sposobem zapobiegania skażeniom bakteryjnym jest szybkie suszenie zboża po żniwach oraz maksymalne skrócenie czasu przechowywania zboża przy zachowaniu niskiej wilgotności, niskiej temperatury i właściwej wentylacji. W trakcie przetwarzania ziarna do odkażania najczęściej stosuje się wysokie temperatury (skuteczność zależy od temperatury, stopnia wilgotności ziarna oraz czasu ekspozycji) [10]. Ta metoda jest jednak stosunkowo droga ze względu na duże zużycie energii i nie nadaje się do wykorzystania przy nowoczesnych technologiach, które ze względów ekonomicznych i ekologicznych zakładają zimną obróbkę ziarna [26].

Dosyć skuteczne jest obniżenie pH ziarna przez dodatek kwasów nieorganicznych (solnego, siarkowego, azotowego), krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (propionowego, mlekowego, masłowego), oraz powierzchniowa dezynfekcja za pomocą alkoholu izopropylowego, aldehydów lub fosforanu trójsodowego [26]. Niestety, niektóre z wymienionych związków w dużych stężeniach są toksyczne, co znacznie ogranicza stopień ich użyteczności w odkażaniu ziarna. W praktyce często stosuje się



odkazywanie z wykorzystaniem kolejno różnych środków chemicznych (olejek z tymianku, ozonowana woda i wodny roztwór  $\text{ClO}_2$ ). Metoda taka skuteczniej eliminuje niepożądaną mikroflorę niż jednorazowo zastosowany środek chemiczny [43], jednak substancje te często zmieniają własności organoleptyczne ziarna i w związku z tym odchodzi się od stosowania metod z ich wykorzystaniem.

Do redukcji bakterii Gram-dodatnich oraz ograniczenia sporulacji *Clostridium perfringens* stosuje się cynk-bacytracynę. W celu odkazywania pasz dodaje się do nich specjalne szczepy bakterii, które produkują różnego rodzaju bakteriocyny, kwas mlekowy lub propionowy – są nieszkodliwe dla zwierząt, a skutecznie ograniczają wzrost niepożądaną mikroflorę [25]. Kierunek ten ma dużą przyszłość i jest obecnie szybko rozwijany.

Skuteczną, lecz wymagającą użycia specjalistycznych instalacji, metodą jest użycie promieniowania jonizującego. Dowiedziono, że promieniowanie gamma jest skuteczne w przypadku odkazywania ziół, zabija mikroflorę baterijną nie zmieniając właściwości smakowych, barwy i zapachu odkazywanego produktu [1]. Ponadto wykazano, że promieniowanie gamma w dawce 10 kGy zmniejsza ilość bakterii tlenowych na ziarnie zbóż o 3 cykle logarytmiczne. Bakterie z rodzaju *Staphylococcus* i bakterie z grupy *Coli* są wrażliwe już na 1 kGy. Dawka 15 kGy niemal eliminuje wszystkie żywe komórki bakterii (przeżywa tylko część *Clostridium*). Promieniowanie to skutecznie redukuje mikroflorę, nie zmieniając właściwości użytkowych i odżywczych ziarna [5]. Promieniowanie podczerwone wykorzystuje się z powodzeniem do suszenia i jednoczesnej dezynfekcji sproszkowanej papryki [44]. Również bombardowanie elektronami o wysokiej i niskiej energii efektywnie redukuje ilość żywych komórek oraz spor *B. cereus* i *B. subtilis* [13, 40], a także innych mikroorganizmów na ziarnie zbóż [12, 47].

W procesie fermentacji etanolowej do odkazywania zacierów od lat stosuje się nadtlenek wodoru oraz siarczyny. Połączenie tych dwóch związków jest zabójcze dla bakterii (bakteryjna peroksydaza w obecności nadtlenu wodoru wytwarza reaktywny anion bezwodnika kwasu siarkowego, który jest śmiertelny dla bakterii) natomiast nie zabija drożdży pozbawionych peroksydazy [11]. Z powodzeniem stosuje się także 3,4,4'-trichlorokarbaniolid, który eliminuje bakterie kwasu mlekowego w procesie fermentacji [33]. Tradycyjnie stosowane antybiotyki, np. penicylina G w fermentacji etanolowej [9], nie są już dzisiaj tak powszechnie używane ze względu na niekorzystne oddziaływanie na środowisko.

Z innych metod dezynfekcji ziarna na uwagę zasługuje przedmuchiwanie dwutlenkiem węgla pod wysokim ciśnieniem [16] i wykorzystanie ozonu (redukcja *E. coli*, *B. cereus* i spor *B. cereus* w suszonych figach [2], a także zastosowanie technologii Oxygreen do odkazywania mąki i ziarna [17]).

## Redukcja grzybów i produkowanych przez nie mikotoksyn

Najskuteczniejszym sposobem zapobiegania skażeniom grzybami, podobnie jak zapobiegania zakażeniom bakteryjnym, jest szybkie suszenie zboża po żniwach oraz maksymalne skrócenie czasu przechowywania zboża z zachowaniem właściwych warunków. Ziarno zbóż jest bezpieczne przy wilgotności do 13% i temperaturze poniżej 10°C. Im wyższa wilgotność i temperatura, tym większe ryzyko rozwoju grzybów przechowalnianych. Wilgotność 18% i temperatura 29,5°C stanowi optimum wzrostu grzybów. Grzyby są także wrażliwe na zawartość tlenu i dwutlenku węgla. Stężenie tlenu poniżej 0,2% hamuje ich wzrost, 40% stężenie CO<sub>2</sub> wywołuje podobny efekt. Długotrwałe przechowywanie grzybów przy ograniczonym dostępie powietrza powoduje przejście grzybów na oddychanie beztlenowe, co skutkuje pojawieniem się przykrego zapachu w zbożu. Ponieważ wiele środków redukujących rozwój grzybów jest drogich lub niedopuszczonych do użytku ze względu na ich szkodliwy wpływ na ludzi i zwierzęta, dlatego wciąż najlepszym sposobem hamowania rozwoju grzybów jest utrzymanie niskiej wilgotności ziarna i utrzymanie odpowiednie go składu powietrza [19].

Spśród metod, pozwalających zredukować liczebność grzybów na ziarnie zbóż, można wymienić sterylizację poprzez moczenie ziarna w etanolu lub podchlorynie sodowym. Metoda ta pozwala na redukcję niektórych gatunków grzybów, ale powoduje wzrost populacji innych [35]. Dobre skutki daje dodatek kwasu propionowego. Związek ten jest toksyczny dla grzybów, co zapobiega ich rozwojowi i denaturuje niektóre mikotoksyny [31]. Odkazanie powierzchniowe ziarna zbóż 0,8% roztworem chloru poprzedzone przepłukaniem etanolem daje również dobre rezultaty [3, 4], jednak im bardziej zanieczyszczone ziarno, tym mniej efektywne jest odkazanie tą metodą. Ekstruzja ziarna także zmniejsza ilość grzybów [38].

Do skutecznych metod zaliczyć należy zastosowanie wysokich temperatur, które niszczą grzybnie i denaturują niektóre mikotoksyny [25]. Wykazano, że temperatura 64°C skutecznie eliminuje grzyby *Penicillium*, *Fusarium* oraz drożdże, niestety nie redukuje groźnych mikotoksyn, jak ochratoksyna A. Temperatura 70°C jest skuteczniejsza do dezynfekcji, powoduje jednak widoczne zmiany w wyglądzie ziarna i jego jakości [21].

Wśród metod wykorzystywanych do redukcji skażeń ziarna grzybami wymienia się także naświetlanie promieniami UV [25], jednak zasięg tego promieniowania jest krótki i pozwala tylko na dezynfekcję powierzchniową. Skuteczne jest również promieniowanie gamma w dawce 4–5 kGy [5]; większa dawka, choć eliminuje grzyby, zmniejsza również zdolność kiełkowania ziaren zbóż [27].

Przeprzana para wodna dezaktywuje niektóre mikotoksyny, między innymi deoksynivalenol [34]. Rozkład mikotoksyn można osiągnąć także przez zastosowanie związków chemicznych, jak nadtlenek wodoru, wodorotlenek wapnia, disiarczan sodu, podchloryn sodu [25]. Za skuteczną metodę niszczenia mikotoksyn uchodzi amoniakowanie ziarna. Redukuje ono zawartość aflatoksyny [8] i innych mikotoksyn

[18], niszczy również spory grzybów 20]. Innym sposobem detoksyfikacji mikotoksyn jest wykorzystanie mikroorganizmów: drożdże *Candida intermedia* użyte w procesie fermentacji etanolowej redukują toksyny F-2, bakteria *Flavobacterium aurantiacum* skutecznie niszczy aflatoksynę, *Acinetobacter calcoaceticus* eliminuje ochratoksynę A, *Agrobacterium* niszczy deoksynivalenol [8], *Saccharomyces cerevisiae* i bakterie kwasu mlekowego eliminują mykotoksyny [42].

W literaturze naukowej zaleca się także stosowanie ozonowania zbóż. Ozon w kontakcie z ziarnem rozszczepia się i dezynfekuje jego powierzchnię. Im wilgotniejsze ziarno, tym lepiej się absorbuje i efektywniej odkaża ziarno [36. 37], praktycznie nie zmieniając jego właściwości użytkowych [30]. W wilgotnym zbożu ozon degraduje mikotoksyny. Szczególnie skuteczny jest wobec mikotoksyn trichotecynowych, gdy ziarno ma niskie pH [51].

Wśród metod dezynfekcji zbóż wymieniana jest fumigacja bromkiem metylu. Metoda ta silnie redukuje spory grzybów. Przy fumigacji bromkiem metylu osiągnięto całkowitą dezynfekcję zbóż przy stężeniu  $25,5 \text{ mg} \cdot \text{dcm}^{-3}$  w czasie 12 godzin przy wilgotności powietrza 95% i temperaturze  $25^\circ\text{C}$  [28, 29]. Kwas 5-aminolewulinowy jest również związkiem skutecznie eliminującym grzyby, jednocześnie nie wpływa on negatywnie na zdolność kiełkowania ziarna, jest tani, nietoksyczny dla środowiska i efektywny w działaniu [24].

Nowoczesną metodą jest traktowanie ziarna zimną plazmą pod niskim ciśnieniem – plazma z powietrza oraz plazma  $\text{SF}_6$  redukują ilość *Aspergillus* oraz *Penicillium* nawet o 4 log po 15-minutowej ekspozycji ziarna na jej działanie (plazma to wysokoenergetyczny czwarty stan skupienia materii, zawiera rozszczepione atomy i cząsteczki, zjonizowane gazy, wolne elektrony, które są wysoce reaktywne). Metoda ta nie niszczy ziarna, nie wymaga użycia chemikaliów, do efektywnego odkażenia wystarczy krótki czas ekspozycji [41].

W celu redukcji skażenia mykotoksynami pasz dla zwierząt stosuje się różnego typu adsorbenty, np. silikaty aluminium – działają one w przewodzie pokarmowym zwierząt wiążąc szkodliwe mykotoksyny i przeciwdziałając w ten sposób zatruciom pokarmowym [18].

## Podsumowanie

Jak widać problem skażenia zbóż jest powszechny i dotyczy terenu całego świata. Choć znanych jest obecnie wiele metod redukcji skażenia mikrobiologicznego, większość z nich jest bardzo droga, wymaga użycia skomplikowanego sprzętu i specjalnych instalacji, jest szkodliwa dla środowiska lub zmienia wartość użytkową ziarna, przez co nie nadaje się do powszechnego stosowania. Znalezienie niedrogiej, a skutecznej metody odkażania ziarna byłoby bardzo cenne zarówno dla przemysłu zbożowo-młynarskiego, jak i dla wszystkich innych gałęzi przemysłu wykorzystujących ziarno zbóż jako surowiec.

## Literatura

- [1] Al-Bachir M. 2007. Effect of gamma irradiation on microbial load and sensory characteristic of aniseed (*Pimpinella anisum*). *Bioresource Techn.* 98: 1871–1876.
- [2] Akbas M.Y., Ozdemir M. 2008. Application of gaseous ozone to control populations of *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* and *Bacillus cereus* spores in dried figs. *Food Microb.* 25: 386–391.
- [3] Andrews S. 1996. Evaluation of surface disinfection procedures for enumerating fungi in foods: a collaborative study. *Int. J. of Food Microb.* 29: 177–184.
- [4] Andrews S., Pardoel D., Harun A., Treloar T. 1997. Chlorine inactivation of fungal spores on cereal grains. *Int. J. of Food Microb.* 35: 153–162.
- [5] Aziz N.H., Souzan R.M., Shahin Azza A. 2006. Effect of  $\gamma$ -irradiation on the occurrence of pathogenic microorganisms and nutritive value of four principal cereal grains. *Appl. Radiation and Isotopes* 64: 1555–1562.
- [6] Bakken L.R. 1997. Culturable and nonculturable bacteria in soil. W: *Modern Soil Microbiology*, J.D. van Elsas, J.T. Trevors, E.M.H. Wellington (red.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY: 47–61.
- [7] Barney R., Price B.D., Sedlacek J.D., Siddiqui M. 1995. Fungal species composition and abundance on stored corn as influenced by several management practices and maize weevil (*Coleoptera: Curulionidae*). *Crop Prot.* 14(2): 159–164.
- [8] Bata A., Lasztity R. 1999. Detoxification of mycotoxin-contaminated food and feed by microorganisms. *Trends in Food Sci. & Techn.* 10: 223–228.
- [9] Bayrock D.P., Thomas K.C., Ingledew W.M. 2003. Control of *Lactobacillus* contaminants in continuous fuel ethanol fermentations by constant or pulsed addition of penicillin G. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 62: 498–502.
- [10] Cenkowski S., Pronyk C., Zmizdzinska D., Muir W.E. 2006. Decontamination of food products with superheated steam. *J. of Food Engin.* 83: 68–75.
- [11] Chang I.S., Kim B.H., Shin P.K. 1997. Use of sulfite and hydrogen peroxide to control bacterial contamination in ethanol fermentation. *Appl. and Envi. Microb.* 63: 1–6.
- [12] Cutrubinis M., Delincee H., Stahl M., Roder O., Schaller H.J. 2005. Detection methods for cereal grains treated with low and high energy electrons. *Radiation Phys. and Chem.* 72: 639–644.
- [13] De Lara J., Fernandez P.S., Periago P.M., Palop A. 2002. Irradiation of spores of *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* with electron beams. *Innovative Food Sci. and Emerging Techn.* 3: 379–384.
- [14] D’Mello J.P.F., Placinta C.M., Macdonald A.M.C. 1999. *Fusarium mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity.* *Animal Feed Sci. and Techn.* 80: 183–205.
- [15] Frazier W.C., Westhoff D.C. 1967. Contamination, preservation and spoilage of cereals and cereal products. W: *Food microbiology*, McGraw-Hill Book Co., USA: 180–191.
- [16] Garcia-Gonzales L., Geeraerd A.H., Spilimbergo S., Elst K., Van Ginneken L., Debevere J., Van Impe J.F., Devlieghere F. 2007. High pressure carbon dioxide inactivation of microorganisms in foods: The past, the present and the future. *Int. J. of Food Microb.* 117: 1–28.
- [17] Gaou I., Dubois M., Pfohl-Leskowicz A., De Jouffrey S., Parent-Massin D. 2005. Safety of oxygreen, an ozone treatment on wheat grains. Part I. A four-week toxicity study in rats by dietary administration of treated wheat. *Food Addit. and Cont.* 22(11): 1113–1119.
- [18] Huwig A., Freimund S., Kappeli O., Dutler H. 2000. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicology Letters* 122: 179–188.
- [19] Kaufmann H.H., Christensen C.M. 1970. Storage environment and mold growth. Presentation on Annual Meeting American Society of Agricultural Engineers, Minneapolis, Minnesota, July 7–10.
- [20] Khan M.F., Smith G.S., Rankins Jr. D.L. 1995. Ammoniation of moldy and nonmoldy prairie hay and its feeding value for sheep. *Small Ruminant Res.* 15: 209–216.
- [21] Kristensen E.F., Elmholt S., Thrane U. 2005. High-temperature treatment for efficient drying of Bred Rye and reduction of fungal contaminants. *Biosystems Engin.* 92(2): 183–195.
- [22] Kumar V., Basu M.S., Rajendran T.P. 2008. Mycotoxin research and mycoflora in some commercially import and agricultural commodities. *Crop Prot.* 27: 891–905.
- [23] Laca A., Mousia Z., Diaz M., Webb C., Severino S.P. 2006. Distribution of microbial contamination within cereal grains. *J. of Food Engin.* 72: 332–338.

- [24] Luksienie Z., Danilcenko H., Taraseviciene Z., Anusevicius Z., Marozienie A., Nivinskas H. 2006. New approach to the fungal decontamination of wheat used for wheat sprouts: Effects of aminolevulinic acid. *Int. J. of Food Microb.* 116: 153–158.
- [25] Maciorowski K.G., Herrera P., Jones F.T., Pillai S.D., Ricke S.C. 2007. Effects on poultry and livestock of feed contamination with bacteria and fungi. *Animal Feed Sci. and Techn.* 133: 109–136.
- [26] Maciorowski K.G., Jones F.T., Pillai S.D., Ricke S.C. 2004. Incidence, sources and control of food-borne Salmonella spp. in poultry feed. *World's Poultry Sci. J.* 60: 446–457.
- [27] Maity J.P., Chakraborty A., Saha A., Santra S.C., Chanda S. 2003. Radiation-induced effects on some common storage edible seeds in India infested with surface microflora. *Radiation Phys. and Chem.* 71: 1065–1072.
- [28] Matsuno M., Janai S. 1963. Researches on gas sterilizing effect upon microbes in stored grain. III. The fungicidal activity of methyl bromide for *Absidia* sp. (fungus of moldy rice grains). *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 28(4): 216–220.
- [29] Matsuno M., Janai S. 1963. Researches on gas sterilizing effect upon microbes in stored grain. IV. The fungicidal activity of methyl bromide on *Penicillium islandicum* (fungus of yellowish rice grains). *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 28(5): 258–261.
- [30] Mendez F., Maier D.E., Mason L.J., Woloshuk C.P. 2003. Penetration of ozone into columns of stored grains and effects on chemical composition and processing performance. *J. of Stored Prod. Res.* 39: 33–44.
- [31] Miller J.D. 1995. Fungi and mycotoxins in grain: implication for stored product research. *J. of Stored Prod. Res.* 31: 1–16.
- [32] Obuchowski W., Strybe K. 2001. The effect of grain cleaning and milling in some Polish mills on the level of grain and flour microbial contamination. *Food Sci. and Techn.* 1(1): STRONY!!!.
- [33] Oliva-Neto P., Yokoya F. 1998. Effect of 3,4,4'-trichlorocarbanilide on growth of lactic acid bacteria contaminants in alcoholic fermentation. *Bioresource Techn.* 63: 17–21.
- [34] Pronyk C., Cenkowski S., Abramson D. 2006. Superheated steam reduction of deoxynivalenol in naturally contaminated wheat kernels. *Food Control* 17: 789–796.
- [35] Rabie C.J., Lubben A., Marais G.J., Jansen van Vuuren H. 1997. Enumeration of fungi in barley. *Int. J. of Food Microb.* 35: 117–127.
- [36] Raila A., Lugauskas A., Steponavicius D., Railiene M., Steponaviciene A., Zvicevicius E. 2006. Application of ozone for reduction of mycological infection in wheat grain. *Ann. Agric. Environ. Med.* 13: 287–294.
- [37] Raila A., Steponavicius D., Railiene M., Steponaviciene A., Zvicevicius E. 2006. Investigation of physical prevention means to reduce mycological contamination of grain surface. *Ekologijos* 3: 88–95.
- [38] Railiene M., Raila A., Zvicevicius E., Steponaviciene A., Lugauskas A., Levinskaite L., Raudonienis V. 2005. Evaluation of the impact of grain processing technology upon distribution of toxic micromycetes. *Botanica Lithuanica*, Suppl. 7: 105–113.
- [39] Reyneri A. 2006. The role of climatic conditions on mycotoxin production in cereal. *Veterinary Res. Comm.* 30 (Suppl. 1): 87–92.
- [40] Sarrias J.A., Valero M., Salmeron M.C. 2002. Elimination of *Bacillus cereus* contamination in raw rice by electron beam irradiation. *Food Microb.* 20: 327–332.
- [41] Selcuk M., Oksuz L., Basaran P. 2008. Decontamination of grains and legumes infected with *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. by cold plasma treatment. *Bioresource Techn.* 99: 5104–5109.
- [42] Shetty P.H., Jespersen L. 2006. Saccharomyces cerevisiae and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating agents. *Trends in Food Sci. & Techn.* 17: 48–55.
- [43] Singh N., Singh R.K., Bhunia A.K. 2003. Sequential disinfection of *Escherichia coli* O157:H7 inoculated alfalfa seeds before and during sprouting using aqueous chlorine dioxide, ozonated water and thyme essential oil. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.* 36: 235–243.
- [44] Staack N., Ahme L., Borch E., Knorr D. 2008. Effect of infrared heating on quality and microbial decontamination in paprika powder. *J. of Food Engin.* 86: 17–24.
- [45] Strybe K., Obuchowski W., Zapór M. 2001. Charakterystyka skażenia mikrobiologicznego ziarna pszenicy i produktów jej przemiału. *Przegląd Zbożowo-Młynarski* 5: 12–15.
- [46] Sweeney M.J., Dobson A.D.W. 1998. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *Int. J. of Food Microb.* 43: 141–158.
- [47] Todoriki S., Kikuchi O.K., Nakaoka M., Miike M., Hayashi T. 2002. Soft electron (low energy electron) processing of foods for microbial control. *Radiation Phys. and Chem.* 63: 349–351.
- [48] Trevors J.T., van-Elsas J.D. 1997. Microbial interactions in soil. W: *Modern Soil Microbiology*, J.D. van-Elsas, J.T. Trevors, E.M.H. Wellington (red.), Marcel Dekker, Inc. New York, NY: 215–243.

- [49] Trojanowska K. 1988. Grzyby z rodzaju *Aspergillus* i *Penicillium* jako wskaźnik oceny jakości ziarna zbóż. *Roczniki AR w Poznaniu Zeszyt* 171.
- [50] Trojanowska K. 2001. Zagrożenia ze strony mikroflory występującej na ziarnie zbożowym i w jego przetworach. Krajowa Rada Przetwórstwa Zbożowo-Młynarskiego, II Sesja Naukowo-Techniczna „Higiena i Jakość Produkcji w Przemysle Zbożowo-Młynarskim”, Warszawa, 12 listopada: 51–59.
- [51] Young J.C., Zhu H., Zhou T. 2006. Degradation of trichothene mycotoxins by aqueous ozone. *Food and Chem. Tox.* 44: 417–424.

## Microflora of the cereal grains and methods reducing microbial contamination

**Keywords:** microflora of cereal grain, microbiological infection, mycotoxins, reduction of microbiological infections

### Summary

The grain of cereals is an essential raw material for many branches of the food industry. Its microbiological purity did not constitute any essential problem in the past on account of applying high temperatures in early processing stages. At application of new, energy-efficient technologies, eliminating the thermal processing stages, it is forcing into working out effective methods of the reduction microbial contamination, because the occurrence of bacteria and fungi often disrupts the course of next production processes; however, in finished products it is generally unacceptable. This article reviews the types of microbiological infections of the cereal raw material and available methods of their reduction.

## Polówka wiązkowa *Agrocybe aegerita* – charakterystyka gatunku oraz możliwości uprawy

Krzysztof Sobieralski, Agnieszka Jasińska

Katedra Warzywnictwa, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu,  
ul. Dąbrowskiego 159, 60-594 Poznań  
e-mail: sobieralski@up.poznan.pl

**Słowa kluczowe:** polówka wiązkowa, *Agrocybe aegerita*

### Wstęp

W środowisku naturalnym Polski występuje ponad 4500 gatunków grzybów wielkoowocnikowych, z czego ok. 1100–1400 uznanych jest za jadalne, lecz tylko niewiele z nich wykorzystywanych jest do uprawy komercyjnej [8,11]. Jednym z takich gatunków jest *Agrocybe aegerita* – polówka wiązkowa. Grzyb ten znany był już w starożytnym Rzymie [37], gdzie ceniono jego wyjątkowe walory smakowe. Badania prowadzone nad tym gatunkiem wykazały, że ma on bardzo dobrą zdolność rozkładania ligniny i może być wykorzystywany w recyklingu drewna [34]. Ponadto polówka wiązkowa charakteryzuje się takimi cechami, jak zdolność do uzyskiwania wysokich plonów w krótkim czasie oraz szybkim wzrostem grzybni i odpornością w stosunku do patogenów. Wymienione cechy mogą przyczynić się do rozwoju uprawy tego gatunku na skalę towarową [46].

Polówka wiązkowa *Agrocybe aegerita* (BRIG.) KÜHNER [34, 40] nazywana niegdyś łuskwiakiem *Pholiota aegerita*, znana jest również pod synonimami: *Pholiota cylindracea* MILLET [30] lub *Agrocybe cylindracea* (DC.: FR.) MAIRE [36]. W Polsce występuje jeszcze 10 innych gatunków z rodzaju *Agrocybe*, 6 z nich, wymienionych niżej, znajduje się na polskiej Czerwonej liście grzybów wielkoowocnikowych: *A. arvalis* (FR.) SINGER, *A. erebia* (FR.) KÜHNER ex SINGER, *A. firma* (PECK) SINGER, *A. paludosa* (J.E. LANGE) KÜHNER & ROMAGN., *A. pusiola* (FR.) R. HEIM, *A. vervacti* (FR.) SINGER [41]. Pozostałe gatunki z rodzaju *Agrocybe*: *A. dura* (BOLT. ex FR.) KUMM, *A. pediades* (PERS.: FRIES) FAYOD, *A. praecox* (PERS.: FR.) FAY., *A. sphaeromorpha* (BULL.: FR.) FAYOD występują pospolicie na polach, łąkach i pastwiskach [40, 41].

Polówka wiązkowa zaliczana jest według systematyki do królestwa *Fungi*, gromady *Basidiomycota*, klasy *Basidiomycetes*, podklasy *Agaricomycetidae*, rzędu *Agaricales*, rodziny *Strophariaceae*, rodzaju *Agrocybe* [15]. Polskie nazewnictwo dla tego rodzaju jest różnorodne, według najstarszych źródeł brzmi bedłka [31], mięsicha [17], łuskwiak [8] lub polówka [12]. Obecnie proponuje się nazwę polówka południowa [38].

Polówka wiązkowa występuje na wszystkich kontynentach. W krajach Europy Środkowej i Północnej oraz w północnej części Stanów Zjednoczonych grzyb ten spotykany jest rzadziej [14, 39]. Rośnie zwykle w skupiskach, na starych bądź martwych pniakach i gałęziach topoli, wierzby, wiązów, jesionów, bzu czarnego, robinii oraz na araukarii brazylijskiej [27, 42].

## Opis gatunku

Polówka wiązkowa jest grzybem o dużej zmienności morfologicznej, wyrażającej się przede wszystkim występowaniem osobników o różnym zabarwieniu oraz powierzchni kapelusza [30, 39].

Kapelusze owocników polówki są jadalne [34], zwykle o średnicy od 8 do 200 mm. Kapelusz jest wypukły do półkolistego, prostuje się w miarę wzrostu, barwy brązowej, ciemniejszy ku środkowi, a na brzegach jasnobrązowy – często prawie biały. W stadium primordium zawiązek kapelusza jest ciemnobrązowy. Powierzchnia kapelusza u niektórych osobników może być bruzdkowana lub delikatnie bruzdowana, najczęściej gładka, prawie jedwabista. Błazki są białe, szarawe u owocników młodych, w miarę dojrzewania zarodników przybierają kolor czekoladowobrązowy. Błazki są średnio szerokie, ciasno osadzone, mogą być zrosnięte z trzonem, wygięte od trzona bądź zbiegające, o brzegach gładkich lub delikatnie drobno karbowanych. Trzon jest biały lub jasnobrązowy, z wyraźnym pierścieniem w górnej części, na przekroju okrągławy, długości od 10 do 150 mm i grubości od 2 do 25 mm. Miąższ jest mięsisty, barwy białej, o przyjemnym zapachu i doskonałym smaku.

Zarodniki są barwy ciemnobrązowej, wydłużone, gładkie, niektóre z olejopodobnymi kropelkami, barwy miodowej lub kasztanowobrązowej. Wielkość spor wynosi (8) 9–16 (17) × 5–9 (10) μm [36].

Badania przeprowadzone przez Uhart i Albertó [36] na wielu osobnikach polówki wiązkowej wykazały zależność między powierzchnią oraz barwą kapelusza a warunkami uprawy. Dla przykładu, użycie jako substratu słomy pszennej powodowało wykształcenie kapelusza o powierzchni gładkiej i jedwabistej. Przy zastosowaniu substratu z trocin wierzbowych oraz okrywy z ziemi, kapelusze były koncentrycznie pomarszczone.

Polówka wiązkowa, jak wiele jadalnych grzybów, posiada mechanizm enzymatyczny pozwalający na rozkład i przetworzenie złożonych kompleksów lignino-celulozowych w prostsze związki [16]. Ta właściwość jest wykorzystywana przy biodegradacji szerokiej gamy odpadów roślinnych [21].



## Właściwości lecznicze i wartość odżywcza

Wiele gatunków grzybów jadalnych, ze względu na swoje właściwości, od dawna stosowanych było na Wschodzie w celach leczniczych. Również wiele gatunków grzybów, które nie nadają się do spożycia, znalazło swoje zastosowanie w medycynie [5, 47]. Badacze niedawno odkryli, że szereg grzybów jadalnych, które są spożywane w krajach azjatyckich posiada właściwości antyoksydacyjne [9]. Obecnie prowadzone są liczne badania nad właściwościami antyoksydacyjnymi ekstraktów z owocników polówki wiązkowej [19, 35]. Polówka ma właściwości przeciwnowotworowe, przeciwgrzybicze i sedatywne, a także zdolność do obniżania poziomu trójglicerydów i cholesterolu we krwi [38]. Wyciągi z polówki działają antymutagennie i mogą pełnić ważną rolę w zapobieganiu nowotworom [29]. Grzyby te zawierają również swoiste substancje o działaniu antybiotycznym [34].

Polówka wiązkowa była wykorzystywana w badaniach nad zastosowaniem grzybów wyższych do otrzymywania wzbogaconych w białko pasz na bazie surowców i odpadów ligno-celulozowych, metodą „solid state” [10].

Gatunek ten wyróżnia się wśród innych gatunków grzybów uprawnych wysoką zawartością białka, wynoszącą 39,0–46,8% s.m. [1, 41]. Młode owocniki charakteryzują się łagodnym smakiem [34] i stanowią smaczny dodatek do potraw drobiowych i rybnych, nadając im posmak mięsa wieprzowego. Owocniki można wykorzystywać również jako składnik sosów i zup. Doskonale nadają się do suszenia, podczas którego nabierają intensywnego grzybowego zapachu [31].

## Uprawa

Polówka wiązkowa jest jadalnym grzybem uprawianym na substratach sporządzonych głównie z odpadów rolniczych i leśnych [22, 24]. Pierwsze badania nad uprawą polówki prowadzone były w Niemczech przez Zadrazilą [45], natomiast pierwsze doświadczenia nad intensywną uprawą towarową przeprowadzono we Włoszech [13].

Prowadzono szeroko zakrojone badania nad przydatnością różnych podłoży do uprawy polówki wiązkowej. Szereg autorów zaleca różne rodzaje substratów uprawowych do uprawy tego gatunku. Uprawę można prowadzić m.in. na drewnie litym, trocinach drzew liściastych [32, 34], sieczce słomianej, zgniecionych kolbach kukurydzy [14].

Gdy uprawa prowadzona jest na otwartym terenie na drewnie, owocniki zbiera się jesienią lub wiosną, a plonowanie trwa 3–4 lata [32]. Ten rodzaj uprawy jest mniej przydatny do produkcji towarowej, gdyż cykl uprawowy trwa dłużej. Gdy użyty substrat jest bardziej rozdrobniony, grzybnia szybciej go kolonizuje oraz lepiej owocuje niż na litym drewnie, co zwiększa plon grzybów [14].

Jak twierdzi Poppe [26], bazując na badaniach około 275 autorów, istnieje ponad 200 rodzajów odpadów rolniczych, które można wykorzystać do uprawy grzybów jadalnych. Według Poppe [25] oraz Poppe i Höfte [27] polówkę wiązkową można uprawiać na mieszankach trocin drzew liściastych z dodatkami ziarna różnych zbóż. Zadrazil [44] stosował słomę rzepaku *Brassica napus* L., zawierającą 22,7% lignin, C : N = 70; słomę słonecznika *Helianthus annuus* L. (25,6% lignin, C : N = 60); łuski ryżowe (29% lignin i C : N = 70). Przydatność łusek ryżowych potwierdzają badania Changa i Mileša [6] oraz Poppe i Höfte [27]. Chapuis i Courtieu [7] używali do uprawy polówki wiązkowej poszatkowanej trzciny *Phragmites communis* TRIN. (20% lignin, C : N = 50). Badania prowadzone przez Philippoussisa i Diamantopoulou [23] oraz Philippoussisa i in. [24] wykazały, że słoma pszenna stanowi bardzo obiecujące podłoże do uprawy polówki. Substrat ten jest szybko przerastany przez grzybnie, co pozwala na uzyskanie wcześniejszego i wyższego plonu niż na pozostałych badanych podłożach, tj. odpadach po produkcji bawełny i łuskach orzeszków ziemnych. Schmithalas i Schildbach [28] wykorzystali do uprawy polówki materiały odpadowe po produkcji piwowskiej.

Najbardziej przydatnymi do uprawy tego gatunku grzyba, są trociny topolowe i wierzbowe [4, 32, 34]. Wykorzystać można także trociny dębowe oraz klonowe. Wysokie plony można uzyskać również na podłożu z trocin bukowych [33, 44].

W celu zwiększenia wysokości plonu, podłoże można wzbogacić śrutą bądź otrębami zbożowymi w ilości 20% w stosunku do suchej substancji podłoża [31] lub zastosować dodatek azotu nieorganicznego, najlepiej w postaci  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  [45].

Materiałem rozmnożeniowym w uprawie polówki jest grzybnia. Grzybnie namnaża się oraz przechowuje na pożywkach agarowych. Najodpowiedniejszymi pożywkami dla polówki, na których zaobserwowano najszybszy wzrost grzybni są standardowa MEA (ekstrakt słodowy) oraz WA (brzeczka) o pH 6.0 podwyższonym za pomocą dodatku KOH [2]. Po przeszczepieniu grzybni na odpowiednio preparowane ziarno zbóż, otrzymuje się grzybnie handlową. Taką grzybnie można przechowywać przez okres około 2 tygodni w chłodziarce, w temperaturze 1–2°C [32].

Do uprawy polówki wiązkowej najbardziej przydatne są polipropylenowe worki, ułożone poziomo, aby grzyb lepiej wzrastał i plonował [34]. Można także wykorzystywać 1–1,5-litrowe słoje. Podłoże nawilża się do wilgotności około 60–65% [14, 31]. W celu uniknięcia rozwoju grzybów konkurencyjnych, tj. *Trichoderma* sp. czy *Fussarium* sp. oraz szkodników, tj. muchówek, nicieni oraz roztoczy [18], podłoże poddaje się pasteryzacji w temperaturze 90–100°C przez 4–6 godzin [31], bądź sterylizacji w temperaturze 121°C przez 1 godzinę [33, 45]. Na górnej powierzchni wychłodzonego podłoża umieszcza się około 1 cm warstwę grzybni ziarnistej i przykrywa folią [31, 32].

## Czynniki wpływające na wzrost i plonowanie

Do prawidłowego i jak najszybszego przerostu podłoża przez grzybnię polówki, muszą być zapewnione odpowiednie warunki. Pierwszą fazę – inkubację grzybni – przeprowadza się w cieplarkach. Temperatura inkubacji wynosić powinna 21–27°C, a względna wilgotność powietrza wg Jablonsky’ego [14] oraz Siwulskiego i Sobieralskiego [32] 85–95%. Stamets [34] podaje wartości 95–100%. Stężenie CO<sub>2</sub> w atmosferze cieplarki nie powinno przekraczać 20000 ppm. Do przerastania podłoża przez grzybnię nie jest potrzebne światło [34]. Grzybnia przerasta podłoże przez okres 20–28 dni [14, 32, 34].

Formowanie zawiązków owocników trwa około 7–14 dni. Powinno przebiegać w niższej temperaturze niż wzrost grzybni (10–16°C), przy wilgotności względnej powietrza 95–100% oraz stężeniu CO<sub>2</sub> nie przekraczającym 2000 ppm. Przy formowaniu zawiązków wymagane jest oświetlenie 500–1000 luxów. Po tym okresie przenosi się pojemniki do pomieszczenia uprawowego. Owocniki tworzą się w temperaturze 13–18°C, względną wilgotność powietrza należy wówczas obniżyć do 90–95%, a natężenie światła oraz stężenie CO<sub>2</sub> utrzymywać na tym samym poziomie, jak przy formowaniu zawiązków owocników [34]. Siwulski i Sobieralski [32] zalecają, aby do pełnego wykształcenia owocników polówki stosować światło o natężeniu 200–500 luxów przez 8–10 h na dobę. Zbyt słabe oświetlenie powoduje wykształcenie owocników o jaśniejszych kapeluszach, barwy kawy z mlekiem.

W celu polepszenia plonowania, można nałożyć warstwę około 1,5 cm okrywy na powierzchni podłoża przerośniętego grzybnią. Dobry plon można uzyskać także bez użycia okrywy, jednak warunkiem jest utrzymywanie odpowiedniej wilgotności podłoża poprzez zamglawianie oraz właściwe wietrzenie [34].

## Zbiór owocników i wielkość plonu

Plonowanie polówki wiązkowej przebiega w dwóch rzutach, co 10–14 dni [34]. Plonem handlowym są kapelusze bez trzonów; trzony są łykowate, twarde i nie nadają się do spożycia [32]. Ponieważ owocniki polówki są bardzo delikatne, zbiera się je całymi kępami [34]. Owocniki zbiera się, gdy większość kapeluszy w kępie ma brzeg całkowicie wyprostowany i nie nastąpił jeszcze wyraźny wysyp zarodników. Nie wycina się pojedynczych owocników, mimo że część z nich może być zbyt młoda lub zbyt wyrosnięta, gdyż powoduje to w krótkim czasie zamieranie całej kępy. Kępy wykrecą się delikatnie z podłoża, by nie uszkodzić powierzchni przerośniętej grzybnią. Owocniki przeznacza się przede wszystkim do spożycia w stanie świeżym. Przydatność do przechowywania grzybów zbieranych w kępach jest wysoka, w temperaturze 2–4°C nawet do 2 tygodni [32, 34].

Wysokość plonu (wydajność) polówki wiązkowej wynosi około 0,5 kg z 2,5–3 kg bloku wysterylizowanego substratu [34]. Plon owocników zależy od rodzaju zastoso-

wanego podłoża. Sobieralski i in. [33] najwyższy plon polówki uzyskali na trocinach bukowych (50 g z 1,8 kg substratu). Według Poppe i Höfte [27] polówka najlepiej plonowała na drobno zmielonych, pasteryzowanych, ale nie wzbogaconych trocinach. Philippoussis i Diamantopoulou [23] uzyskali najwyższy plon owocników polówki na słomie pszennej dwukrotnie sterylizowanej w 121°C – 164,5 g z 1,2 kg substratu.

## Podsumowanie

Zainteresowanie badaczy na całym świecie, w tym również w Polsce, polówką wiązkową ciągle wzrasta, w miarę jak poznawane są kolejne interesujące i użyteczne właściwości tego grzyba. Polówka wiązkowa zasługuje na szczególną uwagę przede wszystkim ze względu na właściwości lecznicze. Wyciągi z tego grzyba mają właściwości antyoksydacyjne, antynowotworowe, sedatywne oraz przeciwgrzybicze. Obecnie prowadzone są liczne badania zmierzające do ich szerszego wykorzystania w medycynie. Polówka jest grzybem bogatym w białko, o wyjątkowych walorach smakowych. Ponieważ charakteryzuje się wysokimi właściwościami rozkładania kompleksów lignino-celulozowych, jest używana do biodegradacji oraz recyklingu odpadów rolnych i leśnych.

Polówka wiązkowa uprawiana jest wciąż na małą skalę, głównie ze względu na brak opracowanych metod produkcji wielkotowarowej. Z tego względu potrzebne jest przeprowadzenie kolejnych badań, które umożliwią opracowanie zaleceń dotyczących produkcji towarowej tego gatunku.

## Literatura

- [1] Bauer Petrovska B., Kulevanova S. 2000. Nutritional quality of different Macedonian edible mushrooms: «[www.amapseec.org/cmapseec.1/papers/pap\\_p059.htm](http://www.amapseec.org/cmapseec.1/papers/pap_p059.htm)».
- [2] Bilay V.T., Solomko E.F., Buchalo A.S. 2000. Growth of edible mushrooms on commercial agar media. *Science of Edible Fungi*, van Griensven (red.) Balkema, Rotterdam: 779–782.
- [3] Błoński F. 1896. Przyczynek do flory grzybów Polski. *Pamiętn. Fizjog.* 14(III): 63–93.
- [4] Cailleux R. 1957. Etat actuel des questions de champignons comestibles autres que *Psalliota hortensis*. *Mushroom Science* 3: 273–283.
- [5] Chang S.T., Buswell J.A. 1996. Mushroom nutraceuticals. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 12: 473–476.
- [6] Chang S.T., Miles P.G. 1989. *Edible mushrooms and their cultivation*, Florida: CRC press.
- [7] Chapuis G., Courtieu P. 1951. Résumé de quelques essais de fumier artificiel dans la culture de champignons. *Mushroom Science* 1: 66–73.
- [8] Chechłowski F. 1898. Grzyby podstawkowe Królestwa Polskiego cz. I. Autobasidiomycetes. Podstawczaki. *Pamiętn. Fizjog.* 15: 1–285.
- [9] Cheung L.M., Cheung P.C.K., Ooi V.E.C. 2003. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chemistry* 81: 249–255.
- [10] Czajkowska D. 1984. Otrzymywanie białka paszowego metodą hodowli grzybów w podłożu stałym, cz. II. *Grzyby* 7: 10–13.

- [11] Grzywacz A. 2008. Różnorodność biologiczna grzybów w lasach. W: Zasoby przyrodnicze polskich lasów, Wydawnictwo PTL, Cedzyna k. Kielc.
- [12] Gumińska B., Wojewoda W. 1983. Grzyby i ich oznaczanie. PWRiL, Warszawa. Wyd. 2: 504.
- [13] Gynes-Kovács M. 1996. Abauversuche mit dem Südlichen Schüppling *Agrocybe aegerita* (BRIG.) SING. *Der Champignon* 4/96: 184–185.
- [14] Jablonsky I. 1986. Uprawa nowych gatunków grzybów jadalnych. *Grzyby* 13: 9–13.
- [15] Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers J.A. 2008. Dictionary of the Fungi. CAB International, Oxon, 10th edition.
- [16] Kirk T.A., Farrell R.L. 1987. Toward elucidating the mechanism of action of the lignolytic system in *Basidiomycetes*. *Annu Rev. Microbiol.* 41: 465–505.
- [17] Kwieciński F. 1896. Roślinność gminy Hańsk. *Pamiętn. Fizjorg.* 14 (III): 27–61.
- [18] Lelley J. 1991. Piltzanbau, Biotechnologie der Kulturspeisepilze. Ulmer, Stuttgart.
- [19] Lo K.M., Cheung P.C.K. 2005. Antioxidant activity of extracts from the fruiting bodies of *Agrocybe aegerita* var. alba. *Food Chemistry* 89: 533–539.
- [20] Manzi P., Aguzzi A., Pizzoferrato L. 2001. Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy. *Food Chemistry* 73: 321–325.
- [21] Mayson E., Verachtert H. 1991. Growth of higher fungi on wheat straw and their impact on the digestibility of the substrate. *Applied Microbiology and Biotechnology* 36: 421–424.
- [22] Nicolini L., Von Ilunolstein C., Carilli A. 1997. Solid state fermentation of orange peel and grape stalks by *Pleurotus ostreatus*, *Agrocybe aegerita* and *Armillariella mellea*. *Applied and Environmental Microbiology* 26: 95–98.
- [23] Philippoussis A., Diamantopoulou P. 2000. Potential for cultivation of exotic mushroom species by exploitation of Mediterranean agricultural wastes. Science and Cultivation of Edible Fungi, van Griensven (ed.) Balkema, Rotterdam: 523–530.
- [24] Philippoussis A., Zervakis G., Diamantopoulou P. 2001. Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus* spp. *World Journal of Microbiology & Biotchnology* 17: 191–200.
- [25] Poppe J. 1995. Cultivation of edible mushrooms on tropical agricultural wastes. Biennial Training course, ABOS & VLIR, University Gent.
- [26] Poppe J. 2000. Use of agricultural waste materials in the cultivation of mushrooms. Science and Cultivation of Edible Fungi, van Griensven (ed.) Balkema, Rotterdam: 3–23.
- [27] Poppe J.A., Höfte M. 1995. Twenty wastes for twenty cultivated mushrooms. Science and Cultivation of Edible Fungi, Elliot (ed.), Balkema, Rotterdam: 171–179.
- [28] Schmithalas K., Schildbach R. 1992. Der Anbau des Südlichen Schüppling (*Agrocybe aegerita*) auf Schüttsubstraten mit Trebern. *Der Champignon* 3/92: 78–82.
- [29] Shon Y.H., Nam K.S. 2001. Antimutagenicity and induction of anticarcinogenic phase II enzymes by basidiomycetes. *Journal of Ethnopharmacology* 77: 103–109.
- [30] Singer R. 1986. The Agaricales in modern taxonomy. Koeltz Scientific Books, Koenigstein.
- [31] Siwulski M. 2004. Uprawiamy grzyby w ogrodzie. Wydawnictwo „działkowiec”, Warszawa: 35–38.
- [32] Siwulski M., Sobieralski K. 2004. Uprawa grzybów jadalnych i leczniczych w warunkach naturalnych. Kurpisz, Poznań: 117–200.
- [33] Sobieralski K., Siwulski M., Grzebielucha I. 2006. Porównanie plonowania polówki wiązkowej *Agrocybe aegerita* (BRIG.) SING. na różnych podłożach. III Ogólnopolska Konferencja: Zasoby genowe roślin w ochronie różnorodności biologicznej. Lublin, 27–29 czerwca: 119.
- [34] Stamets P. 1993. Growing gourmet and medicinal mushrooms. Barkeley: 220–223.
- [35] Tsai S.Y., Tsai H.L., Mau J.L. 2007. Antioxidant properties of *Agaricus blazei*, *Agrocybe aegerita* i *Boletus edulis*. *LWT* 40: 1392–1402.
- [36] Uhart M., Albertó E. 2007. Morphologic characterization of *Agrocybe cylindracea* (*Basidiomycetes*, *Agaricales*) from America, Europe and Asia. *Revista Mexicana Micologia* 24: 9–18.
- [37] Véssey E. 1972. Edrei gombák termesztése. Jegyzet. Országos Erdészeti Egyesület Mikológiai és Faanyagvédelmi Szakosztélya Budapest. METESZ Országos Erdészeti Egyesület: 15–31.
- [38] Wasser S.P., Weis A.L. 1999. Medicinal properties of substances occurring in higher *Basidiomycetes* mushrooms. Current perspective (review). *International Journal of Medicinal Mushrooms* 1: 31–62.
- [39] Watling R. 1992. Observations on the *Bolbitiaceae* – 30. Some Brazilian Taxa. *Boletín de la Sociated Argentina de Botánica* 28(1–4): 77–103.

- [40] Wojewoda W. 2003. Checklist of Polish larger *Basidiomycetes*. Krytyczna lista wielkoowocnikowych grzybów podstawkowych Polski. PAN, Kraków.
- [41] Wojewoda W., Ławrynowicz M. 1992. Czerwona lista grzybów wielkoowocnikowych zagrożonych w Polsce. w. Zakrzewski K., Wojewoda W., Heinrich Z. (red.): Lista roślin zagrożonych w Polsce. PAN, Kraków. wyd. 2: 27–56.
- [42] Wright J.E., Albertó E. 2002. Guia de Hongos la región Pampeña. I. Hongos con laminillas. Buenos Aires.
- [43] Yildiz A., Yeşil Ö.F., Yavuz Ö., Karakaplan M. 2005. Organic elements and protein in some macrofungi of south east Anatolia in Turkey. *Food Chemistry* 89: 605–609.
- [44] Zadrazil F. 1989. Cultivation of *Agrocybe aegerita* on lignocellulose waste. *Mushroom Science* 12(2): 357–386.
- [45] Zadrazil F. 1994. Cultivation of *Agrocybe aegerita* (BRIG.) SING. on lignocellulose containing wastes. *MI.10.1*: A5–22.
- [46] Zadrazil F. 1999. Grundlagen des Anbaues von *Agrocybe aegerita* (BRIG.) SIG. *Der Champignon* 6/99: 296–301.
- [47] Zhuang C., Mizuno T. 1999. Biological responses from *Grifola frondosa* (Dick.: Fr.) S.F. Gray-Mitake (*Aphylophoromycetideae*). *International Journal of Medicinal Mushrooms* 1: 317–324.

## **Black poplar mushroom (*Agrocybe aegerita*) – characteristics of the species and cultivation possibilities**

**Key words:** black poplar mushroom, *Agrocybe aegerita*

### **Summary**

The interest of researchers all over the world in black poplar mushroom – *Agrocybe aegerita* is continuously growing together with the new knowledge obtained on its miraculous properties.

*Agrocybe aegerita* (BRIG.) gained special attention for its healing properties. Black poplar mushroom was found to be medically active in several therapeutic effects for instance antitumor, antifungal, nerve tonic, hypercholesterolemia and hyperlipidemia. Extracts from *Agrocybe aegerita* acquired antimutagenic activities and might play enormous role in cancer prevention. Currently numerous studies are undertaken on wider exploitation of this mushroom in medicine. Black poplar mushroom is protein rich, with extraordinary flavoring values. It is used for biodegradation and recycling of agricultural wastes for its unusual properties to selective delignification.

*Agrocybe aegerita* is still grown on the small scale, mainly because of a lack of appropriate knowledge on the methods of industrial growing. For this reason, more investigations should be undertaken concerning the *Agrocybe aegerita* cultivation methods.

# Identyfikacja, mechanizm działania i zwalczanie bakterii patogenicznych dla pieczarki dwuzarodnikowej *Agaricus bisporus*

Joanna Szumigaj, Jan Szymański

Pracownia Grzybów Uprawnych,  
Instytut Warzywnictwa im. E. Chroboczka w Skierniewicach,  
ul. Rybickiego 15/17, 96-100 Skierniewice  
e-mail: joanna.szumigaj@inwarz.skierniewice.pl

**Słowa kluczowe:** *Pseudomonas tolaasii*, *Janthinobacterium agaricidamnosum*, *Agaricus bisporus*, choroby bakteryjne, plamistość bakteryjna

## Wstęp

Bakterie są szeroko rozpowszechnione w przyrodzie, licznie także występują w podłożu do uprawy pieczarek, w okrywie pieczarkowej oraz w środowisku produkcji. Bakterie odgrywają przede wszystkim ważną rolę w procesie fermentacji kompostu i powstawania zawiązków owocników. Jednak powszechność występowania bakterii wiąże się też z pojawieniem się wśród nich gatunków i szczepów patogenicznych dla pieczarki [12, 13]. Porażenie przez chorobotwórcze bakterie prowadzi często do utraty ponad 10% plonu, a w przypadku szczególnie wrażliwych odmian nawet do 50% [10, 16]. Straty uprawowe określa się dwojako, z jednej strony odczuwa się straty w ilości zbieranych grzybów, a z drugiej – zebrane owocniki są gorszej jakości. Ochrona przed chorobami bakteryjnymi ma więc duże znaczenie ekonomiczne [12, 13].

Po raz pierwszy chorobę bakteryjną pieczarki opisał Tolaas w 1915 roku [46]. Charakterystycznymi objawami tej choroby są nieregularne ciemnobrązowe, brunatne, wklęsłe plamy na kapeluszach, a w przypadku ostrego porażenia również na trzonach grzybów. Stąd nazwa choroby jest określana jako plamistość bakteryjna (ang. bacterial blotch) lub plamistość brunatna [12]. Plamy obserwuje się na powierzchni owocników, które w miarę rozwoju choroby powiększają się i wreszcie pokrywają całą ich powierzchnię. Objawy chorobowe mogą pojawić się w każdym

stadium rozwojowym grzybów uprawnych. Jeśli zostaną porażone młode owocniki, a infekcja bakteryjna będzie ostra, grzyb nie rozwinie się prawidłowo [13].

Początkowo za sprawcę choroby uważano bakterię *Pseudomonas fluorescens* [46], jednak kolejne badania wykazały, że objawy chorobowe wywoływane są przez inny gatunek *Pseudomonas*. Paine [30] wskazał różnice między tymi gatunkami dotyczące reakcji redukcji azotanów oraz rozkładu skrobi. Brak jednoznacznego podobieństwa z *P. fluorescens* był powodem opisanego w roku 1919 nowego patogenicznego gatunku *P. tolaasii* PAINE [30].

*P. tolaasii* jest patogenem, zarówno dla pieczarki dwuzarodnikowej *Agaricus bisporus* (LANGE) IMBACH, jak i pieczarki czterozarodnikowej *Agaricus bitorquis* (QUÉLET) SACC. [13, 25]. Istnieją doniesienia o patogeniczności tej bakterii względem bocznika ostrygowatego *Pleurotus ostreatus* (FR.) KUMMER, a także grzybów shii-take *Lentinula edodes* (BERK.) PEGLER [18, 48].

## Przyczyny rozwoju chorób bakteryjnych

Przyczynami rozwoju choroby są przede wszystkim: nadmierna wilgotność (powyżej 85%) w hali uprawowej, woda na owocnikach oraz wysoka temperatura (powyżej 17°C). Długo utrzymujące się takie warunki są optymalne dla rozwoju patogena. Ważne jest odpowiednie postępowanie podczas podlewania uprawy, gdyż pozostawienie przez długi czas wody na owocnikach sprzyja rozwojowi choroby. Przed infekcją bakteryjną powinno uchronić szybkie – do dwóch godzin – osuszenie owocników. Ważne jest również zachowanie stałej różnicy temperatur między temperaturą otoczenia, a powierzchnią grzybów, tak by powierzchnia owocników była chłodniejsza od temperatury powietrza w hali. Warunki (temperatura, wilgotność, napowietrzenie) panujące w hali uprawowej determinują więc natężenie i częstość występowania chorób bakteryjnych. Przy wysokiej wilgotności, porażenie uprawy skutkuje zwiększeniem intensywności występowania choroby. Warunki klimatyczne mają również wpływ na rozwój infekcji. Między innymi podczas ciepłego lata i jesieni, kiedy wilgotność powietrza jest wysoka, choroby bakteryjne są szczególnie dokuczliwe [11, 12, 13].

Źródłem porażenia mogą być zarodniki grzybów nie wykazujących typowych objawów chorobowych, natomiast wystąpienie sprzyjających warunków do rozwoju patogena, np. kondensacja wody na owocniku, prowadzi do nagłego pojawienia się plamistości bakteryjnej. Wystąpienie choroby w jednym miejscu uprawy wiąże się z jej szybkim rozprzestrzenieniem na inne owocniki w całej hali uprawowej [13]. Badania Gandy [12] wykazały, że rozwój i natężenie choroby bezpośrednio zależą od stężenia komórek patogena w okrywie. Bakterie na owocniki dostają się z okrywy podczas podlewania, lecz również podczas wzrostu, kiedy małe zawiązki owocników znajdują się jeszcze w kontakcie z okrywą. Objawy choroby są końcowym stadium zainfekowania uprawy, której nie można już uratować bez interwencji chemicznej.



Dlatego ważne jest poznanie głównych źródeł infekcji. W tym celu Wong i Preece [51] badali próbki okrywy, wapna defekacyjnego, podłoża, wody używanej przy uprawie pieczarki oraz powietrza w hali uprawowej. Badania wykazały, że głównym źródłem występowania *P. tolaasii* jest okrywa. Sporadycznie patogen był izolowany również z tej warstwy okrywy, która znajdowała się w sąsiedztwie grzybów wolnych od objawów chorobowych. Patogen jest również bardzo łatwo przenoszony na rękach, butach i sprzącie pracowników, którzy mają kontakt z zainfekowaną pieczarkarnią. *P. tolaasi* występuje w powietrzu porażonych hal, ale również w pomieszczeniach, gdzie nie stwierdza się objawów chorobowych. Najwyraźniej przyczyną występowania patogena w tych pomieszczeniach są cząsteczki kurzu przenoszące komórki bakterii. Wykazano, że komórki *P. tolaasi* mogą być przenoszone wraz z prądami powietrza z pomieszczeń zainfekowanych do nowych, czystych hal. Zajmowano się również rolą muchówek i roztoczy w przenoszeniu źródła porażenia. Wykazano, że ok. 7% tych organizmów było odpowiedzialne za rozwój choroby w drugim i trzecim rzucie pojawienia się owocników [51].

Dane literaturowe podają, że już 20 komórek na 1 cm<sup>2</sup> powierzchni okrywy może wywołać chorobę, gdyż bakterie szybko namnażają się na grzybni pieczarek oraz na rozwijających się owocnikach. Natomiast do wystąpienia objawów chorobowych potrzeba  $6,0 \times 10^7$  jtk patogena, niezależnie od rozmiaru i wieku owocnika [52]. Badania Rodriguez-Estrada i Royse [33] wykazały, że na szybkość rozwoju objawów chorobowych ma wpływ również skład podłoża. Zainfekowanie owocników *P. tolaasii* wywołało ostrzejsze objawy plamistości, gdy podłoże zawierało 150 i 250 µg miedzi na gram podłoża.

## Charakterystyka najważniejszych patogenów bakteryjnych

Lata 70. XX wieku to zidentyfikowanie patogenicznego gatunku *Pseudomonas agarici* YOUNG (1970), który odpowiedzialny jest za pojawienie się tzw. ociekających blaszek (ang. drippy gill) [54]. Schisler, Sinden i Sigel (1968) wyizolowali szczep *Pseudomonas* sp. powodujący mumioowość pieczarek [36]. W latach 80. stwierdzono, że oprócz typowych brązowych plam, na owocnikach pojawiają się plamy o innej barwie, tzw. rude plamy (ang. ginger blotch). Wykazano, że objawy te wywołuje bakteria z rodzaju *Pseudomonas*, ale nie jest to *P. tolaasii* [49]. Dalsze badania pozwoliły zidentyfikować nowy gatunek jako *P. gingeri* PREECE & WONG (1982). W Anglii na początku lat 90. XX wieku obserwowano przypadki szybkiego gnicia pieczarek w wyniku działania innej bakterii. Objawy polegały na rozległym brązowieniu i miękkiej zgniliznie owocników oraz trzonów w ciągu 48 godzin od chwili porażenia grzyba. Objawy i szybkość rozwoju choroby były większe w temperaturze powyżej 25°C [9, 21]. Lincoln i in. [20] na podstawie profili kwasów tłuszczowych zakwalifikowali nowy izolat do grupy, do której należały również gatunki *Pseudomonas cepacia*, *P. gladioli*, *P. andropogonis* i *P. solanacearum*. Dalsze

badania wykazały, że badany izolat był blisko spokrewniony z *P. gladioli* i *P. cepacia*, jednakże testy biochemiczne i serologiczne wykazały, że patogen odpowiedzialny za miękką zgniliznę pieczarki różni się od tych gatunków, dlatego określono go jako *P. gladioli* pv. *agaricicola*. Szczep ten ostatecznie oznaczono i opisano jako *Burholderia gladioli* pv. *agaricicola*. Na początku XX wieku w pieczarkarniach pojawiły się nowe objawy miękkiej zgnilizny grzybów [6, 7]. W ciągu dwóch dni od pojawienia się zmian chorobowych, pieczarka ulegała całkowitemu rozkładowi. Chorobie tej towarzyszyły również wgłębienia na owocniku oraz klejące plamy. Choć objawy były podobne do tych, które wywoływała *Burholderia gladioli* pv. *agaricicola*, to badania profilu kwasów tłuszczowych wskazały grupę *Janthinobacterium*, jako najbardziej prawdopodobną, do której należał nowy patogen. Lincoln i in. [21] scharakteryzowali bakterię jako Gram-ujemną, ruchliwą pałeczkę. Maksymalna temperatura wzrostu tego szczepu wynosi 30°C. Nie rośnie w pożywce o odczynie poniżej 5 pH. W młodych hodowlach nie tworzy pigmentu, natomiast w starszych pojawia się niefluoryzujący pigment. Jest oksydazo- i katalazo-dodatnia, nie tworzy indolu, nie redukuje azotanów ani azotynów, tworzy kwas z węglowodanów. Rozkłada cytryniany i sole amonowe jako źródło węgla i energii [2, 21]. Sekwencja 16S rDNA wskazywała w 99% na gatunek *Janthinobacterium lividum*, jednak przeprowadzone testy fermentacyjne 19 cukrów wykazały znaczące różnice między tymi szczepami. Stąd gatunek ten uznano za nowy dla nauki i zaproponowano nazwę *Janthinobacterium agaricidamosum* sp. nov. [21]. Desrumaux [6] wykazał, że choroba wywoływana przez tę bakterię pojawia się w pierwszym rzucie, niezależnie od terminu porażenia, łatwo rozprzestrzenia się poprzez podlewanie i kontakt bezpośredni z patogenem. Badania Ikenaga i in. [17] wskazują, że *J. agaricidamosum* powszechnie występuje w różnych stadiach rozwojowych korzeni ryżu, co świadczy o obecności tego gatunku w środowisku naturalnym gleby. Stąd łatwo może stać się patogenem pieczarki.

## Detekcja i identyfikacja patogenów bakteryjnych

Badania dotyczące chorób bakteryjnych i ich zwalczania skupiają się przede wszystkim nad szybką detekcją patogena w okrywie, w celu szybkiego podjęcia środków zapobiegających rozwojowi choroby. Testy identyfikacyjne, znane dotychczas, wymagały długich procedur laboratoryjnych i nie były jednoznaczne w interpretacji. Badania zmierzające do określenia szybkiej i jednoznacznej metody identyfikacji *P. tolaasii* były tematem pracy Wonga i Preece'a [50]. Wyniki tych eksperymentów przyczyniły się do opracowania tzw. testu białej linii (ang. the white line test), który pomógł, jak sądzono, w warunkach in vitro szybko określić przynależność gatunkową szczepów *Pseudomonas* spp. Test polega na utworzeniu osadu w postaci białej linii na pożywce PAF (**P**seudomonas **A**gar **F**) pomiędzy opalizującą białą kolonią szczepu *P. tolaasii*, a półprzezroczystą kolonią innych szczepów z rodzaju *Pseudomonas*. Przebadano 113 izolatów *P. tolaasii*, które dały pozytywny wynik na

pożywce w postaci białej linii, gdy rosły w sąsiedztwie innego szczepu *Pseudomonas* sp. Biała linia jest wynikiem reakcji dwóch zewnątrzkomórkowych białek: toksyny (LDP ang. lipodepsipeptide) wytwarzanej przez *P. tolaasii* oraz białka WLIP (ang. white line inducing principle) wytwarzanego przez drugi gatunek *Pseudomonas* sp., określane jako *P. reactans* [23, 29]. Wong i Preece [50] wykazali, że 154 szczepy nie należące do gatunku *P. tolaasii*, nie dały wyniku w postaci białej linii. Potwierdzeniem testu białej linii był test *in vivo* przeprowadzony na owocniku pieczarki. Na powierzchnię kapelusza nanoszono zawiesinę szczepu bakterii, a pojawienie się w ciągu 10 minut wyraźnego zagłębienia, świadczyło o porażeniu grzyba przez szczep *P. tolaasii*. Opisane objawy pojawiały się dużo wcześniej niż brunatne plamy. Powstające ubytki (zagłębienia) pojawiały się tak szybko (nawet już po 5 minutach, jeśli inokulum bakterii było wyższe niż  $1 \times 10^8$  kom. w 1 ml), że warunki prowadzonego doświadczenia (m.in. wilgotność) nie miały wpływu na jego przebieg. Co więcej zagłębienia były powodowane jedynie przez szczep *P. tolaasii*. Stwierdzono więc, że za brązowe plamy na owocnikach mogą być odpowiedzialne również inne gatunki należące do rodzaju *Pseudomonas*. Tradycyjne metody identyfikacji, tj. testy fenotypowe, fitopatologiczne i biochemiczne, nie są więc wystarczające. Wyniki badań Munsch i in. [26] wykazały, że podobne objawy choroby bakteryjnej powodowały różne, pod względem genetycznym, gatunki *Pseudomonas* sp. Badania molekularne Godfrey i in. [15] wykazały, że szczep wywołujący plamistość, podobnie jak *P. tolaasii*, dawał też pozytywne wyniki w teście białej linii, ale genetycznie był podobny do *Pseudomonas syringae*. Stąd konieczność stosowania nowych metod molekularnych do identyfikacji patogenów bakteryjnych. Munsch i Alatosava [24] poddają w wątpliwość, że test białej linii jest specyficzny tylko dla *P. tolaasii* i *P. reactans*. Przedstawione wyniki badań potwierdziły, że w tym teście podobne wyniki mogą dać również inne gatunki *Pseudomonas* spp.

Skuteczną metodę detekcji szczepów *P. tolaasii* z różnych siedlisk opracowali Lee i in. [19]. Wykorzystując dwie pary specyficznych primerów w reakcji wewnętrzznego PCR (ang. nested PCR) skutecznie przeprowadzili amplifikację DNA interesującego gatunku bakterii. Zastosowanie tej reakcji zwiększyło 1000-krotnie wykrycie *P. tolaasii* niż miałyby to miejsce w przypadku przeprowadzenia zwykłego PCR. Ponadto wykazali, że w mieszaninie komórek bakterii, zawierającej oprócz *P. tolaasii* inne szczepy z rodzaju *Pseudomonas* w ilości wyższej 10000-krotnie niż komórki *P. tolaasi*, w reakcji nested PCR z użyciem tych primerów równie skutecznie wykrywano patogena. Przedstawiona praca wskazuje, że opracowanie tej metody może wpłynąć na znacznie szybszą identyfikację zagrożenia wystąpienia plamistości w uprawie pieczarki [19].

Znakowanie genetyczne patogenów genem odporności na kanamycynę jako metodę detekcji bakterii przeprowadzili Wu i in. [53]. Badania polegały również na określeniu różnic fenotypowych między izolatami *P. tolaasii*. Wykazano rewersje szczepów z form niepatogenicznych do patogenicznych po wyizolowaniu ich z chorych owocników.

Molekularną identyfikacją szczepów *Pseudomonas* spp., które wywoływały plamy o różnej intensywności i barwie, zajmowali się Godfrey i in. [14]. W zależności od rodzaju plam szczepy podzielono na dziewięć grup. Podobieństwo genetyczne między szczepami badali z wykorzystaniem analizy filogenetycznej sekwencji nukleotydowej genów 16S rRNA. Na podstawie wyników badań stwierdzili, że 33 izolaty można zaliczyć do grupy *P. fluorescens*. Wyniki wskazywały również, że oprócz znanych gatunków bakterii, tj. *P. tolaasi*, *P. gingerii* i *P. reactans*, szereg innych gatunków z rodzaju *Pseudomonas* może wywoływać plamistość u pieczarki dwuzarodnikowej.

## Mechanizm działania patogenów

Patogeniczne szczepy bakterii wykazują większą adhezję do powierzchni grzybów uprawnych niż szczepy niepowodujące objawów chorobowych [32, 53]. Sztuczne zainfekowanie kapelusza, a następnie umieszczenie jego fragmentu w sterylnej wodzie i wysianiu zawiesiny na pożywkę agarową wykazało, że ok. 70% komórek bakterii patogenicznych pozostaje na powierzchni owocnika, natomiast w przypadku saprotrofów tylko ok. 27%. Patogeniczne szczepy równie dobrze przylegały do strzępek grzybni [32]. Morfologiczne zmiany w porażonych tkankach oraz mechanizm degradacji komórek grzybni pieczarki były tematem wielu prac [3, 8, 44]. Cole i Skellerup [3] wykazali, że wewnętrzna struktura tkanki pieczarki w pierwszym stadium zainfekowania przez *P. tolaasii* ulega dezorganizacji, następuje rozdzielenie strzępek znajdujących się w sąsiedztwie atakujących bakterii. Centralna wakuola ulega redukcji lub całkowitemu zanikowi, a system transportu przez ściany jest zachwiany w wyniku zniszczenia błony komórkowej. Dalszy rozwój infekcji prowadzi do całkowitej dezorganizacji wnętrza strzępki, w którym akumulują się ciemne, gęste substancje, z resztkami cytoplazmy. Wykazano, że zniszczenie wnętrza komórki wywołuje toksyna wytwarzana przez patogen [27, 29]. Nowe wyniki potwierdzające te obserwacje przedstawili także Soler i in. [40] oraz Bassarello i in. [1]. Bassarello i in. [1] wykazali, że *P. tolaasii* wytwarza jeszcze pięć innych toksyn, które odpowiadają za rozwój choroby bakteryjnej. Lo Cantore i in. [22] zajmowali się mechanizmem działania toksyny wydzielanej przez *P. tolaasii* oraz tzw. białka WLIP produkowanego przez *P. reactans*. Białka te powodują lizę komórek na skutek szoku osmotycznego za pośrednictwem powstania por w membranie komórki. Jednak jak wykazano, aktywność hemolityczna była wyższa w przypadku białka WLIP, co może sugerować, że szczep *P. reactans* również może być patogeniczny w stosunku do pieczarki. Coraiola i in. [4] wykazali, że aktywność białka WLIP oraz toksyny (tolasyna I) związków wytwarzanych, odpowiednio, przez szczepy *P. reactans* i *P. tolaasii*, zależy od ich stężenia i składu liposomów.

Toksyna aktywuje działanie tyrozynazy, która odpowiada za wystąpienie brązowych plam na owocnikach. Aktywność tyrozynazy rośnie wraz ze wzrostem stężenia toksyny [38, 39]. Soler i in. [40] badali stopień plamistości wywoływany przez

patogeny bakteryjne pieczarki. Zmiany na pieczarce wywoływane przez gatunek *P. tolaasii* i *P. ginger* można rozróżnić kolorymetrycznie. Bakteria *P. tolaasii* jest odpowiedzialna za specyficzną zmianę koloru pieczarki, niezależnie od stężenia komórek bakterii. Profil barw jest wyraźnie różny od plam wywołowanych przez *P. gingeri*.

## Ochrona przed chorobami bakteryjnymi

W profilaktyce chorób bakteryjnych pieczarki najpowszechniej stosowane są związki chloru, np. woda chlorowana podchlorynem sodu i dwutlenkiem chloru, kwas nadoctowy, a także związki czwartorzędowych soli amoniowych. Ważne jest umiejętne dawkowanie środków chlorowych, gdyż nadmiar chloru jest dla uprawy zdecydowanie niekorzystny i przyczynia się do uszkodzenia owocników. Natomiast zbyt małe stężenie preparatu nie działa dezynfekująco, a dodatkowo może systematycznie uodparniać czynnik chorobotwórczy [43, 45]. Szymański i Szudyga [45] badali skuteczność preparatów chlorowych i niechlorowych w zwalczaniu chorób bakteryjnych pieczarki, a przede wszystkim infekcji wywołowanych przez *Janthinobacterium* sp. W testach in vitro wykazali skuteczność preparatu zawierającego jako substancję aktywną dwutlenek chloru oraz środków niechlorowych, głównie zawierających kwas nadoctowy, czwartorzędowe sole amoniowe oraz dwuchloroizocjanuran sodowy. Bezpośrednio do uprawy zalecono preparat zawierający 5% dwutlenek chloru oraz drugi zawierający dwuchloroizocjanuran sodowy. Obecnie najczęściej stosowanymi środkami do zwalczania chorób bakteryjnych są preparaty zawierające dwutlenek chloru [43, 45].

Alternatywną dla chemicznych preparatów mogą być inne metody, np. tzw. ochrona biologiczna czy dezynfekcja fotokatalityczna. Między innymi Sawada i in. [34] wskazują, że stosowanie lamp UV skutecznie redukuje liczbę najważniejszych patogenów bakteryjnych w uprawie pieczarki.

Wiele badań skupia się nad pozyskiwaniem szczepów antagonistycznych w stosunku do bakterii chorobotwórczych. Nair i Fahy [28] wykazali, że wprowadzenie właściwych szczepów *Pseudomonas* sp. oraz bakterii *Enterobacter aerogenes* wraz z *P. tolaasii* do okrywy, nie wywołuje objawów chorobowych typowych dla tego patogena. Podobne doświadczenia prowadzili Fermor i Lynch [10]. Natomiast Parret i in. [31] z *Pseudomonas* sp. wyizolowali bakteriocynę o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych, które można wykorzystać jako czynnik hamujący rozwój *P. tolaasii*. Szymański [42] potwierdził aktywność antagonistyczną szczepów z rodzaju *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Clavibacter* i *Burkholderia* w stosunku do *P. tolaasii*. Inokulowanie owocników zawieszoną w wodzie mieszaniną szczepów antagonistycznych oraz patogena nie wywoływało choroby pieczarki. Tsukamoto i in. [47] wyizolowali szczepy bakterii (*Mycetocola tolaasinivorans*, *Mycetocola lacteus*, *Acinetobacter* sp., *Pedobacter* sp., *Bacillus pumilus*, *Sphingobacterium multivorum*) z dziko rosnących grzybów m.in. bocznika ostrogowatego, gąsówki fioletowawej, lejkówki buławotrzonowej, czernidłaka gro-

madnego, które hamowały rozwój choroby lub tłumili objawy plamistości bakteryjnej. Wykazano, że te bakterie, podobnie jak *P. tolaasii*, przylegają do strzępek grzybni i mogą być doskonałym czynnikiem biologicznym w zwalczaniu chorób bakteryjnych. Mechanizm działania wyizolowanych mikroorganizmów polegał na detoksyfikacji toksyny wydzielanej przez *P. tolaasii*. Badania Sahin [35] wykazały ponadto, że szczepy *Streptomyces* spp. hamowały rozwój tego patogena.

Znaczenie w zwalczaniu patogenów bakteryjnych mogą mieć także olejki eteryczne i wyciągi roślinne. Między innymi Soler-Rivas i in. [41] wykazali, że dodatek pozostałości po produkcji oleju z oliwek w ilości 10% do uprawy bocznika łyżkowanego *Pleurotus pulmonarius* hamuje rozwój objawów wywoływanych przez *P. tolaasii*. Właściwości bakteriobójcze miał 4-metylokatechol oraz katechol (związki obecne w wodzie otrzymanej podczas produkcji oleju z oliwek), jednak aby skutecznie hamować rozwój badanego gatunku, wymagane było wprowadzanie ponad 10% wyprodukowanych odpadów, co było niekorzystne dla plonowania pieczarki. Sokovic i Griensven [37] przebadali szereg olejków roślinnych – między innymi z rumianku pospolitego, mięty pieprzowej, lebidki pospolitej, bazylii pospolitej, tymianku właściwego, szałwii lekarskiej oraz ich składników – pod kątem hamowania wzrostu patogenów pieczarki. Największą i najszerzą aktywność wykazał olejek z lebidki pospolitej. Według Dawoud i Eweis [5] wyciągi z szałwii czerwonokorzeniowej oraz cytryny zwyczajnej mogą również przyczynić się do zwalczania bakterii chorobotwórczych w uprawie pieczarki.

## Podsumowanie

Porażenie uprawy pieczarki *Agaricus bisporus* przez bakterie prowadzi do częściowej utraty plonu, dochodzącej często aż do 50%. Na pojawienie się bakteryjnej choroby składa się nieprawidłowo prowadzona technologia uprawy, ale także nieodpowiednio prowadzona profilaktyka i higiena w pieczarkarni. W prezentowanej pracy przedstawiono charakterystykę patogenów bakteryjnych, mechanizm ich destruktywnego działania oraz najnowsze dane literaturowe dotyczące szybkiej detekcji i identyfikacji bakterii chorobotwórczych dla pieczarki. Omówiono ponadto badania z zakresu biologicznych metod ochrony przed porażeniem upraw pieczarki.

## Literatura

- [1] Bassarello C., Lazzaroni S., Bifulco G., Lo-Cantore P., Iacobellis N.S., Riccio R., Gomez-Paloma L., Evidente A. 2004. Tolaasins A-E, five new lipodepsipeptide produced by *Pseudomonas tolaasii*. *J. Nat. Prod.* 67: 811–816.
- [2] Buchanan R.E., Gibbons N.E. 1974. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 8th edition, Williams & Wilkins Co., Baltimore, USA Chang S.T., Miles P.G. 2004. Mushroom cultivation, nutritional value, medicinal effect and environmental impact. Second Edition. CRC Press. NYC USA: 164–165.
- [3] Cole A.L.J., Skellerup M.V. 1986. Ultrastructure of the of *Agaricus bisporus* and *Pseudomonas tolaasii*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 87(2): 314–316.

- [4] Coraiola M., Lo Cantore P., Lazzaroni S., Evidente A., Iacobellis N.S., Dalla Serra M. 2006. WLIP and tolaasin I, lipodepsipeptides from *Pseudomonas reactans* and *Pseudomonas tolaasii*, permeabilise model membranes. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 1758(11): 1713–1722.
- [5] Dawoud M.E.A., Eweis M. 2006. Phytochemical control of edible mushrooms pathogenic bacteria. *J. Food Agr. Environ.* 4(1): 321–324.
- [6] Desrumaux B. 2004. Aetiological aspects and treatment of soft rot (*Janthinobacterium agaricidamnosum*) in mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Champignonberichten* 219: 3–11.
- [7] Desrumaux B. 2004. Bacterial soft rot in mushrooms: an overview. *Champignonberichten* 219: 13–16.
- [8] Dyki B., Staniaszek M., Szymański J. 1993. Light and electron microscope investigation on mushroom fruit bodies infected with mummy disease. *Zeitsch. Pfl. Krank.* 100(4): 389 – 393.
- [9] Fermor J.T., Lincoln S.P. 2000. Mushroom soft rots. *Mushrooms News* 48(4): 16–24.
- [10] Fermor T.R., Lynch J.M. 1988. Bacterial blotch disease of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*: Screening, isolation and characterization of bacteria antagonistic to the pathogen (*Pseudomonas tolaasii*). *J. Appl. Microbiol.* 65: 179–187.
- [11] Fletcher J.T. 1979. Bacteria and mushrooms. *Mush. J.* 82: 451–457.
- [12] Gandy D.G. 1967. The epidemiology of bacterial blotch of the cultivated mushroom. *Rep. Glasshouse Crops Res. Inst.* 1966: 150 – 154.
- [13] Geijn van de J. 1981. Bacterial diseases in practice. *Mush. J.* 102: 197–199.
- [14] Godfrey S.A.C., Harrow S.A., Marshall J.W., Klena J.D. 2001. Characterization by 16S rRNA sequence analysis of *Pseudomonads* causing blotch disease of cultivated *Agaricus bisporus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 67(9): 4316–4323.
- [15] Godfrey S.A.C., Marshall J.W., Klena J.D. 2001. Genetic characterization of *Pseudomonas* “NZI7” – a novel pathogen that results in a brown blotch disease of *Agaricus bisporus*. *J. Appl. Microbiol.* 91: 412–420.
- [16] Goor M., Vantomme R., Swings J., Gillis M., Kersters K., Ley J.de. 1986. Phenotypic and genotypic diversity of *Pseudomonas tolaasii* and white line reacting organisms isolated from cultivated mushrooms. *J. Gen. Microbiol.* 132: 2249–2264.
- [17] Ikenaga M., Asakawa S., Muraoka Y., Kimura M. 2003. Bacterial communities associated with nodal roots of rice plants along with the growth stages: Estimation by PCR-DGGE and sequence analyses. *Soil Sci. Plant Nutr.* 49(4): 591–602.
- [18] Lee H.I., Cha J.S. 1998. Cloning of a DNA fragment specific to *Pseudomonas tolaasii* causing bacterial brown blotch disease of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Korean J. Plant Pathol.* 14: 177–183.
- [19] Lee H.I., Jeong K.S., Cha J.S. 2002. PCR assays for specific and sensitive detection of *Pseudomonas tolaasii*, the cause of brown blotch disease of mushrooms. *Lett. Appl. Microbiol.* 35: 276–280.
- [20] Lincoln S.P., Fermor T.R., Stead D.E., Sellwood J.E. 1991. Bacterial soft rot of *Agaricus biturquis*. *Plant Pathol.* 40: 136–144.
- [21] Lincoln S.P., Fermor R.T., Tindall B.J. 1999. *Janthinobacterium agaricidamnosum* sp. nov., a soft rot pathogen of *Agaricus bisporus*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 49: 1577–1589.
- [22] Lo Cantore P., Lazzaroni S., Coraiola M., Dalla Serra M., Cafarchia C., Evidente A., Iacobellis N.S. 2006. Biological characterization of white line-inducing principle (WLIP) produced by *Pseudomonas reactans* NCPPB1311. *Mol. Plant Microbe Interact.* 19(10): 1113–1120.
- [23] Mortishire-Smith R.J., Nutkins J.C., Packamn L.C., Brodey C.L., Rainey P.B., Johnstone K., Williams D.H. 1991. Determination of the structure of an extracellular peptide produced by the mushroom saprotroph *Pseudomonas reactans*. *Tetrahedron* 47: 3645–3654.
- [24] Munsch P., Alatosava T. 2002. The white-line-in-agar test is not specific the two cultivated mushroom associated pseudomonads, *Pseudomonas tolaasii* and *Pseudomonas „reactans”*. *Microbiol. Res.* 157: 7–11.
- [25] Munsch P., Geoffroy V.A., Alatosava T., Meyer J.-M. 2000. Application of siderotyping for characterization of *Pseudomonas tolaasii* and “*Pseudomonas reactans*” isolates associated with brown blotch diseases of cultivated mushrooms. *Appl. Environ. Microbiol.* 66(11): 4834–4841.
- [26] Munsch P., Johnstone K., Alatosava T. 2002. Evidence for genotypic differences between the two siderovars of *Pseudomonas tolaasii*, cause of brown blotch disease of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. *Microbiol. Res.* 157: 93–102.
- [27] Murata H., Tsukamoto T., Shirata S. 1998. rtpA, a gene encoding a bacterial two-component sensor kinase, determines pathogenic traits of *Pseudomonas tolaasii*, the casual agent of brown blotch disease of cultivated mushroom, *Pleurotus ostreatus*. *Mycoscience* 39: 261 – 271.
- [28] Nair N.G., Fahy P.C. 1973. Toxin production by *Pseudomonas tolaasii* Paine. *Aust. J. Biol. Sci.* 26: 509–512.

- [29] Nutkins J.C., Mortishire-Smith R.J., Packamn L.C., Brodey C.L., Rainey P.B., Johnstone K., Williams D. H. 1991. Structure determination of tolaasin, an extracellular lipodepsipeptide produced by the mushroom pathogen *Pseudomonas tolaasii* Paine. *J. Am. Chem. Soc.* 113: 2621–2627.
- [30] Paine S.G. 1919. Studies in bacteriosis. II. A brown blotch disease of cultivated mushrooms. *Ann. Appl. Biol.* 5: 206–219.
- [31] Parret A.H.A., Temmerman K., De Mot R. 2005. Novel lectin-like bacteriocins of biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. *Appl. Environ. Microbiol.* 71(9): 5197–5207.
- [32] Preece T.F., Wong W.C. 1982. Quantitative and scanning electron microscope observations on the attachment of *Pseudomonas tolaasii* and other bacteria to the surface of *Agaricus bisporus*. *Physiol. Plant Pathol.* 21: 251–257.
- [33] Rodriguez-Estrada A.E., Royse D.J. 2007. Yield, size and bacterial blotch resistance of *Pleurotus eryngii* grown on cottonseed hulls/oak sawdust supplemented with manganese, copper and whole ground soybean. *Bioresource Technol.* 98(10): 1898–1906.
- [34] Sawada D., Ohmasa M., Fukuda M., Masuno K., Koide H., Tsunoda S., Nakamura K. 2005. Disinfection of some pathogens of mushroom cultivation by photocatalytic treatment. *Mycoscience* 41(1): 54–60.
- [35] Sahin N. 2005. Antimicrobial activity of *Streptomyces* species against mushroom blotch disease pathogen. *J. Basic Microbiol.* 45: 64–71.
- [36] Shisler L.C., Sinden J.W., Sigel E.M. 1968. Etiology of mummy disease of cultivated mushrooms. *Phytopathology* 58: 944–948.
- [37] Sokovicč M., Van Griensven L.J.L.D. 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.
- [38] Soler-Rivas C., Arpin N., Oliver J.-M., Wichers H. J. 1999a. Biochemical and physiological aspects of brown blotch disease of *Agaricus bisporus*. *FEMS Microbiol. Rev.* 23(5): 591–614.
- [39] Soler-Rivas C., Arpin N., Olivier J.M., Wichers H. J. 1999b. The effects of tolaasin, the toxin produced by *Pseudomonas tolaasii* on tyrosinase activities and the induction of browning in *Agaricus bisporus* fruiting bodies. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 55 (1): 21–28.
- [40] Soler-Rivas C., Arpin N., Oliver J.-M., Wichers H. J. 2000. Discoloration and tyrosinase activity in *Agaricus bisporus* fruit bodies infected with various pathogens. *Mycol. Res.* 104: 351–356.
- [41] Soler-Rivas C., Garcia-Rosado A., Polonia I., Junca-Blanch G., Marin F.R., Wichers H.J. 2006. Microbiological effects of olive mill waste addition to substrates for *Pleurotus pulmonarius* cultivation. *Int. Biodeter. Biodegr.* 57(1): 37–44.
- [42] Szymański J. 1999. The antagonistic bacteria for *Pseudomonas tolaasii* – pathogen of cultivated mushroom bacterial blotch. *Folia Medica Lodziensis* 26: 61–70.
- [43] Szymański J., Savage D.K., Głowacki J. 2000. Chlorine dioxide as new form chlorine for prophylaxis and controlling bacterial diseases and general disinfection AT cultivated mushroom house. Proceedings of the XVth Czech and Slovak Plant Protection Conference. Brno. 12–14.09.2000.
- [44] Szymański J., Świętosławski J. 1994. Morfologiczne zmiany w owocnikach porażonych mumią. *Biuletyn Warzywniczy* 42: 121–129.
- [45] Szymański J., Szudyga K. 2004. Wpływ niektórych preparatów dezynfekcyjnych na bakterie powodujące miękką zgniliznę pieczarki. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 497: 735–742.
- [46] Tolaas A.G. 1915. A bacterial disease of cultivated mushrooms. *Phytopathology* 5: 5.
- [47] Tsukamoto T., Murata H., Shirata A. 2002. Identification of non-pseudomonad bacteria from fruit bodies of wild *Agaricales* fungi that detoxify tolaasin produced by *Pseudomonas tolaasii*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66(10): 2201–2208.
- [48] Tsuneda A., Suyama K., Murakami S., Ohira A. 1995. Occurrence of *Pseudomonas tolaasii* on fruiting bodies of *Lentimula edodes* formed *Quercus* logs. *Mycoscience* 36: 283–288.
- [49] Wong W.C., Fletcher J. T., Unsworth B. A., Preece T.F. 1982. A note on ginger blotch, a new bacterial disease of the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. *J. Appl. Bacteriol.* 52: 43–48.
- [50] Wong W.C., Preece T.F. 1979. Identification of *Pseudomonas tolaasi*: the white line in agar and mushroom tissue block rapid pitting tests. *J. Appl. Bacteriol.* 47: 401–407.
- [51] Wong W.C., Preece T.F. 1980. *Pseudomonas tolaasi* in Mushroom Crops: A note on primary and secondary sources of the bacterium on a commercial farm in England. *J. Appl. Bacteriol.* 49: 305–314.



- [52] Wong W.C., Preece T.F. 1982. *Pseudomonas tolaasii* in cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*) crops: numbers of the bacterium and symptom development on mushrooms grown in various environments after artificial inoculation. *J. Appl. Bacteriol.* 53: 87–96.
- [53] Wu R.M., Palmer B., Cole A. 1998. Phenotypic variation and survival of genetically marked *Pseudomonas tolaasii* in mushroom compost. *Can. J. Microbiol.* 44(4): 373–377.
- [54] Young J.M. 1970. Drippy gill: a bacterial disease of cultivated mushrooms caused by *Pseudomonas agarici* n. sp. *New Zeal. J. Agr. Res.* 13: 977–990.

## Identification, destruction mechanism and control of the bacteria pathogenic to cultivated mushrooms *Agaricus bisporus*

**Key words:** *Pseudomonas tolaasii*, *Janthinobacterium agaricidamnosum*, *Agaricus bisporus*, bacterial diseases, bacterial blotch

### Summary

Bacterial diseases are responsible for considerable mushroom *Agaricus bisporus* crop losses. Very often even 50% mushroom production can be lost due to disease. The infection occurs when the environmental conditions in the cropping house are favorable for pathogen growth, i.e. temperature above 20°C, RH of more than 85%, unfit ventilation after watering. The reason of disease development is also lack of suitable prevention and hygiene in the cropping house. This report presents the characteristics of major bacterial pathogens, mechanism of their destruction, sources of infection as well as bacteria detection. Moreover, the biological control methods of mushrooms cultivation was described.



## Dystrybucja fotoasymilatów kluczowym procesem determinującym plon

**Zofia Starck**

*Katedra Fizjologii Roślin, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego,  
02-776 Warszawa, Nowoursynowska 159  
e-mail: kfr@sggw.pl*

**Słowa kluczowe:** akceptory, donory, enzymy, fotoasymilaty, hormony

### Wprowadzenie

Plon rolniczy jest wynikiem produkcji biomasy w procesie fotosyntezy i jej dystrybucji zgodnym z programem zakodowanym w genomie i modyfikowanym przez zmieniające się warunki środowiska. W czasie ewolucji rośliny wykształciły mechanizm zintegrowanych reakcji w przebiegu procesu fotosyntezy, który maksymalizuje wykorzystanie energii świetlnej, jednocześnie minimalizując efekty foto-inhibicji, i optymalizuje wykorzystanie składników mineralnych, głównie azotu i fosforu [57]. W ciągu doby, przy różnych stosunkach długości dnia i nocy, produkcja fotosyntetyczna całej rośliny powinna znacznie przewyższać straty wynikające z oddychania. Wytworzona biomasa jest transportowana przez tkanki przewodzące do różnych organów – akceptorów fotoasymilatów częściowo lub całkowicie heterotroficznych [15, 26, 39, 55, 68, 69, 78]. Dystrybucja fotoasymilatów odbywa się zgodnie z genetycznymi wzorcami, odmiennymi dla różnych gatunków i dostosowanymi do zmian w poszczególnych etapach ontogenezy. Są one ponadto fenotypowo modyfikowane w wyniku zmienności czynników środowiska.

Zaopatrzenie poszczególnych akceptorów nawet w stresowych warunkach środowiska nie powinno powodować „głodu” (famine), hamującego wzrost, a w skrajnym przypadku – nawet oddychania. W warunkach optymalnych nie może jednak spowodować „sytości” (feast) dla jednego akceptora kosztem innych [32, 57]. Z tego wynika konieczność ścisłej kontroli zarówno procesu fotosyntezy jak i dystrybucji fotoasymilatów na różnych poziomach organizacji. W ostatnim okresie najwięcej uwagi przywiązuje się do regulacji ekspresji genów zarówno stymulujących jak i hamujących syntezę enzymów i hormonów, uczestniczących bezpośrednio lub pośrednio w fotosyntezie i w transporcie substancji pokarmowych. Genomika ma na celu wyjaśnienie

np. jak globalne zmiany klimatyczne (stopniowy wzrost temperatury i stężenia dwutlenku węgla w środowisku, malejąca ilość ozonu i nieregularne klęski żywiołowe – powodzie, susze), wpływają na ekspresję genów, a w konsekwencji – na powstający fenotyp specyficznie reagujący na te warunki. Genomika ułatwia przewidywanie, jakie powstaną fenotypy z określonych genotypów [11] i jakich można oczekiwać plonów.

## Definicja pojęć: donor, akceptor, dystrybucja, współczynnik plonowania

**Donorem** albo dawcą (angielski termin *source*) nazywane są organy zaopatrujące różne części rośliny w substancje pokarmowe; najczęściej są nimi fotosyntetyzujące liście. U wielu roślin fotoasymilaty są okresowo akumulowane w liściach lub w organach spichrzowych, nazywanych buforowym donorem [75]. Wspomniane organy spichrzowe, w okresie gromadzenia substancji pokarmowych są typowymi akceptorami. W warunkach dużego zapotrzebowania na substancje pokarmowe, przy niskiej intensywności fotosyntezy lub jej braku, substancje zapasowe są remobilizowane i wówczas te same organy stają się donorami. Podobna sytuacja ma miejsca u drzew liściastych na wiosnę, przed rozwinięciem się pąków liściowych oraz w czasie powstawania kwiatów, np. u drzew owocowych [68]. Analogicznym donorem są na wiosnę bulwy ziemniaka, korzenie niektórych warzyw i inne organy spichrzowe, zaopatrujące pęd kwiatostanowy, wyrastający w drugim roku wegetacji. Donorami związków mineralnych są z reguły korzenie.

**Akceptory** lub biorcy, (angielski termin *sink*) są to organy częściowo lub całkowicie heterotroficzne, najczęściej zaopatrywane w fotoasymilaty z wyrosniętych liści. W ogromnej większości przypadków akceptory stanowią plon rolniczy.

**Dystrybucja fotoasymilatów** w dużym stopniu determinuje wielkość **współczynnika plonowania** (HI – *harvest index*). Jest to stosunek masy organu, stanowiącego plon rolniczy do masy całej rośliny. W wielu przypadkach przy obliczeniach HI dla uproszczenia nie bierze się pod uwagę masy korzeni. Ze strategii rolnika, realizowanej przy współpracy z hodowcami roślin, wynika konieczność zwiększenia maksymalnej produktywności fotosyntezy przy jednoczesnym ograniczeniu wzrostu organów nie będących plonem. Powstaje natomiast problem, do jakiego stopnia można ograniczyć wzrost np. korzeni przy uprawie zbóż lub roślin okopowych czy warzyw dostarczających owoce. Ta problematyka znalazła się w centrum uwagi twórców „zielonej rewolucji”, kojarzącej się z badaniami Normana Borlauga, laureata Nagrody Nobla w 1970 roku. Jednym z zadań hodowców było wówczas zwiększenie plonu pszenicy, ryżu i innych zbóż, głównie poprzez zmiany proporcji masy źdźbła do kłosa. Klasycznym przykładem świadczącym o roli dystrybucji asymilatów w biologii plonowania jest porównanie rozmieszczenia znakowanych  $^{14}\text{C}$  fotoasymilatów u dzikich form pszenicy *Triticum aegilopoides* i *Triticum durum*, u których

źdźbło akumulowało około 67% bieżąco wytworzonych produktów fotosyntezy, w porównaniu z *Triticum aestivum*, gdzie ponad 90% fotoasymilatów było transportowane do kłosa.

Dzikie formy pomidorów charakteryzują się rozbudowanymi organami wegetatywnymi i wieloma drobnymi owocami. W badaniach Stahl [66] u dzikich form pomidorów HI wynosił poniżej 0,2, a u odmian karłowych sięgał wartości ok. 0,7. Wzorec dystrybucji jest bowiem zdeterminowany genetycznie; jego realizacja dominuje nad wpływem czynników środowiska.

## Charakterystyka akceptorów

W badaniach biologii roślin w ostatnich latach stosunkowo mało uwagi poświęcono zagadnieniu mechanizmu dystrybucji fotoasymilatów [42, 68, 78]. Zdaniem Farrara [15] jednym z ważniejszych czynników utrudniających postęp w tej dziedzinie jest brak precyzyjnej terminologii, charakteryzującej fizjologiczne właściwości donorów i akceptorów substancji pokarmowych. Dominowały badania prowadzone na poziomie biologii molekularnej. Obecnie w większym stopniu powrócono do badań prowadzonych na poziomie całego organizmu, jednak opartych na osiągnięciach biologii molekularnej. Coraz częściej wykorzystywane są rośliny transgeniczne, w których zmieniony jest poziom hormonów lub enzymów uczestniczących w metabolizmie akceptorów i donorów. Wiele uwagi poświęca się również porównywaniu dystrybucji fotoasymilatów u różnych genotypów w tym mutantów z roślinami dziko rosnącymi.

W interpretacji modeli matematycznych prezentujących współdziałanie donory–akceptory, najczęściej przy założeniu: jeden donor, kilka akceptorów, rodzą się pytania, jaki jest klucz dystrybucji substancji pokarmowych? i czy regulacja rozpoczyna się już w donorze, we floemie czy dopiero akceptorach?.

Duża różnorodność akceptorów wynika z wielorakich pełnionych przez nie funkcji. Stwarza to trudności w porównywaniu aktywności akceptorów. Jednym z dominujących parametrów akceptorów jest ich wielkość, często jednak nie skorelowana z aktywnością. W akceptorach rosnących dominującym wskaźnikiem jest intensywność podziałów komórkowych, a w konsekwencji – liczba komórek. O wielkości ziarniaków, np. u pszenicy i ryżu decyduje między innymi liczba komórek endospermu [24, 82]. Podobne zależności pomiędzy liczbą komórek a wielkością mięsistych owoców wykazano u smagliczki, avokado (*Persea americana*) [62] oraz u pomidorów. Owoce wykształcone u podstawy grona są często większe, w porównaniu z zahamowanymi we wzroście owocami ze szczytowej części grona z mniejszą liczbą komórek [27]. Innym parametrem charakterystycznym dla akceptorów – organów spichrzowych i reproduktywnych – jest jakość i ilość zakumulowanych substancji. Wiąże się to z ich zapotrzebowaniem na fotoasymilaty i składniki mineralne, głównie w azot.

Od lat w literaturze stosowany jest mało precyzyjny, a przez wielu autorów uważany nawet za mylący termin „siła akceptora” (ang. sink strength). Zrodziło to

myśl przeprowadzenia dyskusji na Forum specjalistów na temat poprawności stosowania tego terminu w określaniu jakości akceptorów, a tematem Forum były rozważania – „Siła akceptora. Czym ona jest i jak się ją mierzy” [16]. Termin ten najczęściej oznacza intensywność dopływu substancji pokarmowych (zwykle fotoasymilatów) do określonego akceptora w określonym czasie. Tymczasem każdy akceptor (sink) jest tylko jednym z elementów złożonego systemu – organizmu rośliny. Nie może więc być rozpatrywany w izolacji od pozostałych organów, będąc tylko integralną częścią całej rośliny. Zaopatrzenie akceptora, oprócz funkcjonowania floemu [69] jest uzależnione od obecności innych akceptorów, ich zapotrzebowania na substancje pokarmowe i od warunków środowiska, często specyficznym modyfikujących metabolizm [17, 18, 22, 34, 42, 68]. Większość dyskutantów Forum negatywnie oceniła termin „siła akceptora” proponując zastąpienie go innymi, np. potencjalna siła, potencjalna pojemność lub aktywność. Nicolas i in. [51] analizując zaopatrzenie owoców brzoskwini w substancje pokarmowe zaproponowali termin „intensywność absolutnego wzrostu owoców” (absolute fruit growth rate).

Pomimo że w czasie wypowiedzi na Forum i na licznych sympozjach dominował pogląd, że termin „siła akceptora” nie jest prawidłowy, nadal jest on jednak powszechnie używany w piśmiennictwie.

W poszukiwaniu wyjaśnienia mechanizmu dystrybucji substancji pokarmowych nadal rodzi się wiele pytań. Jakie kryteria decydują o priorytetowym zaopatrzeniu niektórych organów, szczególnie w warunkach z deficytowym poziomem węglowodanów i/lub azotu? Czy nasila się wówczas konkurencja między akceptorami? W jaki sposób utrzymywana jest homeostaza organizmu lub minimalizowane są jej zaburzenia? Jakie czynniki determinują konieczność ciągłych fluktuacji wzorca dystrybucji i ich regulacji oraz kontroli?

**Rola enzymów.** Każdy typ akceptora charakteryzuje się specyficznym metabolizmem. Regulacja ekspresji genów, warunkujących syntezę białek enzymatycznych, uczestniczących w tym metabolizmie jest uzależniona między innymi od etapu ontogenezy rośliny i modulowana przez czynniki środowiska. Enzymy metabolizmu sacharozy determinują pojemność akceptorów dzięki powstawaniu gradientu substancji transportowanych w rurkach sitowych. Dotyczy to szczególnie inwertazy, kluczowego enzymu zlokalizowanego w ścianie komórkowej, biorącego udział w rozkładunku floemu. Po hydrolizie sacharozy, powstające wówczas heksozy są nie tylko substancjami pokarmowymi, importowanymi do komórek akceptora przy udziale monosacharydowych transporterów, ale również cząsteczkami sygnałowymi, regulującymi szereg procesów [7, 32, 58, 59].

Inwertaza jest enzymem uczestniczącym w reakcji roślin na stresy biotyczne i abiotyczne [64]. Jej aktywność jest regulowana przez różne hormony: auksyny, cytokininy, gibereliny oraz przez ABA, etylen i brasinosteroidy. Geiger i in. [20] wykazali współzależność między aktywnością kwaśnej inwertazy a importem fotoasymilatów do strąków fasoli. Względna intensywność wzrostu (RGR – relative

growth rate) owoców papryki, akumulującej cukry proste, była w doświadczeniach Nielsena i in. [52] dodatnio skorelowana z aktywnością kwaśnej inwertazy. Dużą aktywność inwertazy wykazano również w owocach pomidorów akumulujących heksozy [83], natomiast w owocach brzoskwini zawierających sacharozę dominującym enzymem jest syntaza sacharozy (SuSy) i syntaza fosforanu sacharozy (SPS) [29]. Z badań Morandi i in. [47] wynika, że brzoskwinia oprócz sacharozy transportuje przez floem sorbitol; nie gromadzi go jednak w owocach; po rozładunku floemu sorbitol jest metabolizowany przez dehydrogenazę sorbitolu (SDH) lub oksydazę sorbitolu (SOX). Modyfikacja stosunków donory–akceptory – w doświadczeniach ze zmianą liczby owoców, obrączkowaniem pędu uniemożliwiającym transport floemowy do owoców i w konsekwencji hamującym ich wzrost lub po defoliacji pędu – powoduje duże zmiany w metabolizmie zarówno sorbitolu jak i sacharozy. Przypuszcza się, że sorbitol spełnia funkcję cząsteczki sygnałowej, modulującej aktywność SDH. Reasumując stwierdzono, że wzrost owoców brzoskwini zależał od stosunku liście/owoce, modyfikującego stosunki w całej roślinie.

Specyfikę aktywności enzymów w akceptorach fotoasymilatów stwierdzano również w organach spichrzowych. W korzeniach buraka cukrowego brak jest aktywnej inwertazy, w przeciwieństwie do rzepy akumulującej cukry proste [68]. W zgrubieniu hypokotyli rzodkiewki tylko u młodych roślin aktywność inwertazy jest wysoka i stopniowo z wiekiem maleje. Wzrost tego akceptora koreluje natomiast z aktywnością syntazy sacharozy (SuSy) [76]. Enzymy metabolizmu sacharozy inwertaza i syntaza sacharozy pełnią też kluczową rolę w akumulacji substancji pokarmowych w korzeniu marchwi. W doświadczeniach z transgeniczną marchwią zawierającą antisens mRNA syntazy sacharozy (SuSy) zahamowany był wzrost organu spichrzowego przy tylko nieznacznie obniżonej masie części nadziemnej. Jeśli w podobny sposób obniżono aktywność wakuolarną inwertazy kwaśnej lub inwertazy zlokalizowanej w ścianie komórkowej, wzrost korzenia spichrzowego marchwi był praktycznie całkowicie zahamowany [74].

**Rola hormonów.** Z powyżej nakreślonej charakterystyki akceptorów wynika współdziałanie między ich aktywnością a wzrostem biomasy. Z tego wypływa następny wniosek, świadczący o udziale hormonów w dystrybucji substancji pokarmowych, a w konsekwencji – w wytwarzaniu plonu. Do dziś prowadzone są badania, często niepopularne w rolnictwie ekologicznym, w których rośliny uprawne traktuje się naturalnymi lub syntetycznymi hormonami w celu stymulacji wzrostu organów, stanowiących plon rolniczy. Oto kilka przykładów z ostatnich lat. Kłosa ryżu, opryskiwane kinetyną wykształcały większe ziarniaki, dzięki zwiększonej liczbie komórek w endospermie. Auksyny i gibereliny również zwiększały plon ziarniaków ryżu. Oprysk ABA powodował przeciwny efekt [82]. Zwiększoną masę kłosów i ziarniaków jęczmienia uzyskano po jego oprysku syntetyczną cytokininą – 6-benzylamino-puryną (BAP) [28].

Wyniki tego typu badań są niekiedy wykorzystywane w uprawie roślin. Nie dają one jednak precyzyjnej odpowiedzi na pytanie, jaką fizjologiczną rolę pełnią hor-

mony w dystrybucji substancji pokarmowych determinującej wytwarzanie plonu?. Brak jest bowiem pewności, czy w doświadczeniach zastosowano odpowiednie stężenie, jaką ilość podawanego związku rośliny pobrały i czy prawidłowo przebiegał ich metabolizm?. Z drugiej strony niektóre syntetyczne regulatory są w komórkach wolniej degradowane niż naturalne hormony. Drastycznie szybką degradację auksyny (IAA) wprowadzonej do korzeni grochu wykazali Black i Edelman [5]. Dlatego w praktyce ogrodniczej częściej stosuje się syntetyczne auksyny, np. kwas naftaleno-octowy (NAA), naftoksy-octowy (NOA) i inne.

Rola cytokinin w regulacji dystrybucji asymilatów jest znana od lat. Stymulują one podziały komórkowe i mobilizują substancje pokarmowe, zwiększając aktywność akceptorów. Wpływają też na ekspresję genów niekiedy nazywanych „genami fotosyntezy” i „genami akceptorów” [63]. W latach 60. powszechnie stosowano określenie „transport substancji kierowany przez hormony” (hormone directed transport) [48, 56, 67]. Klasyczne badania ilustrujące taką funkcję cytokinin wykonali Mothes i Engelbrecht [49] i Engebrecht [13] postulując szczególne własności „ściągnięcia” asymilatów do tkanek ze zwiększoną aktywnością cytokinin. Obserwowano wytwarzanie tak zwanych „mobilizujących centrów”, zciągających substancje pokarmowe. Niejako potwierdzeniem, a nawet rozszerzeniem takiej funkcji cytokinin są badania [25] przeprowadzone na transgenicznym tytoniu z lokalnie zwiększonym w pączkach bocznych stężeniem enzymu izopentenyl transferazy (ipt). Enzym ten uczestniczy w początkowym etapie syntezy cytokinin. U tytoniu, który nie jest gatunkiem tworzącym bulwy, lokalna nadprodukcja cytokinin w pączkach bocznych imitowała zmiany fizjologiczne obserwowane w czasie tuberyzacji u ziemniaka. Z tego można wyciągnąć wniosek, że zwiększony poziom cytokinin spowodował realizację niezwyklej zmiany programu rozwoju tytoniu, prowadzącej do wytworzenia bulw na bocznych pędach, czyli do inicjacji nowego, aktywnego akceptora, mobilizującego cukry i akumulującego skrobię.

Cytokiny pośrednio wpływają również na zaopatrzenie akceptorów w fotoasymilaty dzięki hamowaniu starzenia się liści-donorów. Ponadto powodują zwiększoną aktywność kwaśnej inwertazy zlokalizowanej w ścianie komórkowej i transportera glukozy [12]. W transgenicznym tytoniu ze zwiększoną ekspresją inhibitora inwertazy, czyli z obniżoną aktywnością tego enzymu, cytokiny nie hamowały jednak procesu starzenia [35]. Świadczy to o ścisłej współzależności między cytokinami a badanym enzymem.

Bardzo oryginalną metodę obniżenia poziomu cytokinin zastosowali Werner i in. [80], również prowadząc badania na transgenicznym tytoniu. Deficytowy poziom cytokinin był wynikiem nadprodukcji enzymów degradujących cytokiny poprzez ich oksydację. Uzyskiwane wyniki efektu tak zwanego „syndromu deficytu cytokinin” porównywano z analogicznymi reakcjami u dzikich form. Obserwowano zahamowanie wzrostu pędu przy przeciwnych efektach systemu korzeniowego. Porównując szereg parametrów próbowano wyjaśnić przyczyny ograniczonej pojemności akceptorów – rosnących liści i drastyczne obniżenie zawartości cukrów. Akcep-



tory roślin z deficytowym poziomem cytokinin miały zmniejszoną liczbę komórek, mniejszą aktywność inwertazy wakuolarniej i sprawności rozładunku floemu, a w konsekwencji – zmniejszone wykorzystywanie dostarczanych asymilatów.

Rola auksyn jako hormonów regulujących dystrybucję asymilatów jest szczegółowo opisywana w piśmiennictwie. Dotyczy ona szczególnie wzrostu owoców mięsistych, zawierających więcej auksyn i obficie zaopatrywanych w substancje pokarmowe [68]. Na szczególne podkreślenie zasługują badania zespołu Bangertha [2], prowadzone na pomidorach. Dyskutowane są tam przyczyny nierównomiernego wzrostu owoców w tym samym gronie. Może to być wynik niejednakowej ilości auksyn eksportowanych z poszczególnych owoców do pędu. Owoce zlokalizowane u podstawy grona są wcześniej zawiązane i być może wysyłają do osi owocostanu większe ilości auksyn, co powoduje zwiększony dopływ fotoasymilatów.

W uprawie pomidorów pod osłonami od lat stosowano oprysk kwiatów syntetyczną auksyną, kwasem naftoksy-octowym (NOA), zawartą w preparacie Betokson lub NOA łącznie z gibereliną –  $GA_3$ , co powodowało szybsze zawiązywanie owoców partenokarpicznych i stynulację ich wzrostu. Zmiany te były wynikiem zwiększonego transportu bieżąco wytwarzanych fotoasymilatów do organów reproduktywnych [71]. Regulatory wpływały ponadto na rozbudowę tkanek przewodzących: floemu i ksylemu w osi kwiatostanowej [72, 73].

Na szczególne podkreślenie zasługują wyniki doświadczeń Stahl [66], w których porównywano reakcję na oprysk kwiatów NOA +  $GA_3$  u dzikich form pomidorów z reakcją odmiany karłowej o ograniczonej liczbie liści. Dzikie formy pomidorów po oprysku regulatorami wzrostu, tworzyły znacznie większą masę owoców, kosztem organów wegetatywnych. U formy karłowej końcowy plon owoców roślin traktowanych NOA +  $GA_3$  nie był większy od plonu roślin kontrolnych, gdyż hodowca przemodelował wzór dystrybucji substancji pokarmowych ograniczając do minimum wzrost organów wegetatywnych preferując wzrost owoców.

W innych badaniach oprysk pomidorów etefonem zmieniał wzór dystrybucji  $^{14}C$ -fotoasymilatów. Zwiększone było wówczas zaopatrzenie dolnej części łodygi kosztem transportu akropetalnego [81].

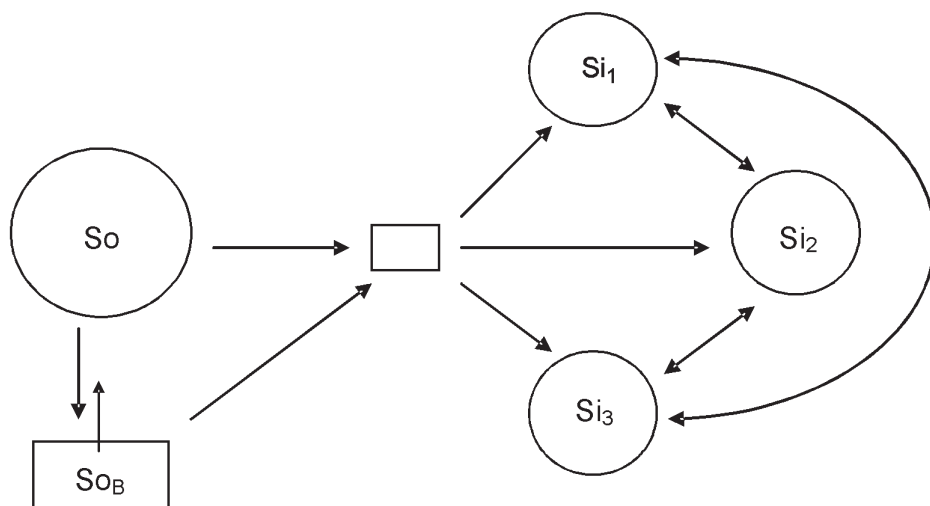
Traktowanie roślin gibereliną stymulowało transport fotoasymilatów u rzodkiewki z deficytem potasu, gdzie zaopatrzenie zgrubienia hypokotyli było drastycznie ograniczone. Obniżona też była aktywność kwaśnej inwertazy, a w konsekwencji hamowany był wzrost tego akceptora [54]. Wprowadzenie  $GA_3$  do hypokotyli zmniejszało negatywne skutki deficytu potasu w przeciwieństwie do braku analogicznej reakcji u roślin z pełnej pożywki. Z tego można wyciągnąć wniosek, że rośliny z niedostateczną zawartością potasu miały niedobór giberelin lub niską ich aktywność, co utrudniało zaopatrzenie organu spichrzowego w substancje pokarmowe.

Z przytoczonych przykładowo wybranych badań wynika, że hormony uczestniczą w procesie transportu i dystrybucji fotoasymilatów na różnych poziomach organizacji, aczkolwiek w wielu przypadkach może to być oddziaływanie pośrednie.

## Interakcje między akceptorami: konkurencja czy współdziałanie?

Wyjaśnienie mechanizmu dystrybucji fotoasymilatów jest obecnie, jak już wspomniano, jednym z kluczowych zagadnień biologii roślin. Wiąże się ono z poznaniem sposobu wysyłania i odbioru kaskady sygnałów i przekazywania informacji. Przypuszcza się, że sygnały mają różną siłę, być może zależną od stopnia fosforylacji czujników lub transporterowych białek uczestniczących w przemieszczaniu substancji pokarmowych [26]. W rozważaniach nad mechanizmem dystrybucji w całej roślinie na szczególną uwagę zasługują interakcje między jednorodnymi i różnorodnymi akceptorami, zasilanymi w substancje pokarmowe przez wiele donorów. Warunkiem prawidłowego funkcjonowania organizmu jest zaopatrzenie wszystkich organów w substancje pokarmowe, zgodne z genetycznie zakodowanym wzorcem dystrybucji; jest on charakterystyczny dla określonej rośliny, etapu ontogenezy i warunków środowiska. Optymalne odżywianie wszystkich organów jest bowiem jednym z podstawowych czynników warunkujących utrzymanie homeostazy rośliny. Z punktu widzenia biologii plonowania stanowi jednocześnie warunek wytworzenia wysokich plonów. W piśmiennictwie często spotyka się określenie „konkurencja o fotoasymilaty” między akceptorami [61]. Dotyczy ona głównie jednorodnych akceptorów: np. kwiatów, owoców czy bulw ziemniaka. U złoceń przy zwiększonej liczbie kwiatów nasila się nie tylko konkurencja między tymi akceptorami, lecz również między organami reprodukcyjnymi i wegetatywnymi [6]. Podobnie zmniejszenie liczby intensywnie rosnących owoców ogórka powoduje stymulację wzrostu owoców pozostawionych na roślinie [38]. Konkurencja o asymilaty jest też jedną z przyczyn zróżnicowanej masy owoców pomidora zlokalizowanych u nasady grona i przy jego wierzchołku [3]. U ziemniaka w doświadczeniu modelowym z rośliny mającej trzy bulwy usunięcie dwóch powodowało zwiększenie intensywności wzrostu bulwy pozostawionej na stolonie [14]. W tym samym doświadczeniu defoliacja (usunięcie 50% powierzchni liści) już po dwóch dniach spowodowała drastyczne zahamowanie wzrostu wszystkich trzech bulw. Jest to wynikiem oczywistego wpływu aktywności organów–donorów fotoasymilatów na ich akceptory.

Ścisłe współdziałanie obserwuje się między trzema typami akceptorów: naturalnymi jednorodnymi i różnorodnymi oraz alternatywnymi, powstającymi po ataku patogenów lub szkodników, czyli stresów biotycznych (rys. 1). Między akceptorami naturalnymi i alternatywnymi nasila się typowa konkurencja o fotoasymilaty, w której często wygrywa patogen. U roślin porażonych wirusami, wiroidami, bakteriami, grzybami lub zaatakowanych przez szkodniki pojawia się nowy, najczęściej bardzo aktywny, niepożądany akceptor substancji pokarmowych. Takie kosztowne akceptory zużywają dużą część fotoasymilatów i składników mineralnych rośliny-żywiciela [4]. Ponadto zmuszają one roślinę-gospodarza do zmian metabolizmu już na poziomie modyfikacji ekspresji wielu genów. Porażone rośliny syntetyzują substancje obronne, likwidują powstające uszkodzenia i zranienia [9, 68] (tab. 1).



**Rysunek 1.** Współdziałanie między donorami fotoasymilatów (So) i donorami buforowymi (So<sub>B</sub>) oraz między trzema typami akceptorów: Si<sub>1</sub> – jednorodnymi: np. kwiatami, owocami, nasionami, bulwami; Si<sub>2</sub> – różnorodnymi, np. liście, korzenie, łodygi; Si<sub>3</sub> – patogenami, np. wirusy, bakterie, grzyby i szkodnikami, np. mszyce, przędziorki, nicienie; zaznaczono wspólny etap zaopatrzenia wszystkich akceptorów, zakończony związkiem przekazywanym do floemu, najczęściej sacharozą; dla uproszczenia przedstawiono tylko jeden donor fotoasymilatów i donor buforowy (schemat własny)

**Tabela 1.** Zmiany równowagi donor–akceptor w roślinach porażonych patogenami lub zaatakowanych przez szkodniki [wg 68 zmieniona]

|  |
|--|
| Obrona przed patogenami i szkodnikami  |
| 1) indukcja ekspresji genów obrony   |
| 2) synteza białek PR (patogen related proteins)                                      |
| 3) synteza innych związków utrudniających wzrost patogenów                           |
| 4) regeneracja tkanek po uszkodzeniach zaatakowanych organów                         |
| Zaopatrzenie alternatywnych akceptorów w substancje pokarmowe                        |
| 1) w fotoasymilaty   |
| 2) w składniki mineralne w tym głównie w azot  |
| 3) zwiększone wydatkowanie energii na transport i dystrybucję substancji pokarmowych |
| Zmiany metabolizmu rośliny-gospodarza i modyfikacje wzrostu rośliny                  |
| 1) zmiany w ilości i aktywności hormonów oraz ich transportu                         |
| 2) indukcja wzrostu galasów i różnego typu tumorów                                   |

W wielu przypadkach patogeny lub szkodniki powodują powstawanie różnego typu narośli: galasów lub innych tumorów [37]. Rośliny zmuszane są wówczas do lokalnej indukcji wzrostu specyficznych struktur, co wiąże się ze zmianami w syntezie hormonów, lokalnie indukujących podziały komórkowe i realizację specyficznego różnicowania. Galasy powstają np. po infekcji *Agrobacterium tumefaciens* u różnych gatunków roślin: u *Rosaceae* i *Brassicaceae* na korzeniach, u złocieni – na łodydze, W tych nowo utworzonych akceptorach rozbudowywana jest cała sieć

tkanek przewodzących [45], co ułatwia zaopatrzenie galasu w substancje pokarmowe. W galasach i różnego typu tumorach wzrasta ilość auksyn, cytokinin i innych hormonów zaburzając równowagę hormonalną rośliny.

Bardzo powszechnymi patogenami roślin są mączniak i rdza, lokalizujące się na powierzchni liści wielu gatunków roślin uprawnych i dziko rosnących [68]. W roślinie porażonej, obok drastycznie zwiększonego wzrostu zapotrzebowania na substancje pokarmowe, następują zmiany w przebiegu procesów fizjologicznych. Często hamowana jest ekspresja genów fotosyntezy powodując obniżenie intensywności asymilacji dwutlenku węgla [68]. U *Acatia pycnantha* BENTH., zaobserwowano natomiast stymulację fotosyntezy jako rekompensatę za zwiększone zapotrzebowanie na fotoasymilaty, wynikające z tworzenia galasów [10]. W roślinach porażonych rdzą, hamowany jest eksport fotoasymilatów z liści. W wielu przypadkach zapotrzebowanie grzyba na substancje pokarmowe jest tak duże, że zaatakowany liść nie może być nadal donorem fotoasymilatów dla naturalnych akceptorów; żywi tylko atakujący roślinę organizm pasożytniczy. W skrajnych warunkach taki liść staje się nawet akceptorem fotoasymilatów, produkowanych w zdrowych liściach [4].

Powyższe przykłady wskazują na istnienie silnej konkurencji o substancje pokarmowe zarówno między jednorodnymi akceptorami naturalnymi jak i akceptorami powstającymi w przypadku stresów biotycznych. Budzi się natomiast wątpliwość czy terminem konkurencja można nazwać zmiany w wielkości zaopatrzeniu pędu i korzeni lub owoców i organów wegetatywnych w warunkach zmian rozwojowych rośliny lub w przypadku zaistnienia stresów. Niezależnie od tej wątpliwości rodzi się następne pytanie, jaki czynnik „decyduje” o zmianach we wzorcach dystrybucji, czyli proporcjach zaopatrzenia poszczególnych akceptorów? [15, 68 i tam cytowane prace]. Zdaniem Minchina i in. [44] sam akceptor „decyduje” o wielkości zaopatrzenia, które wzrasta aż do punktu wysycenia, określonego przez pojemność akumulacyjną organu. Punkt wysycenia jest zdeterminowany wzrostem, metabolizmem i intensywnością oddychania, a być może sprawnością rozładunku floemu i akumulacji importowanych związków.

Zmiany w dystrybucji następują zwykle po całkowitym wyeliminowaniu któregoś z akceptorów (np. po opadnięciu owoców) lub po uniemożliwieniu dopływu substancji pokarmowych, np. na skutek obrączkowania pędu, lub w przypadku drastycznej zmiany warunków. Roślina może stymulować lub hamować zaopatrzenie niektórych akceptorów. W doświadczeniach przeprowadzonych na pomidorach sukcesywne usuwanie kwiatów kolejnych gron, uniemożliwiająca tworzenie owoców, powodowało rozbudowę organów wegetatywnych. Masa całych roślin w serii kontrolnej i pozbawionej owoców na końcu wegetacji były zbliżone, pomimo że w serii kontrolnej owoce stanowiły połowę masy całej rośliny [70]. Wydaje się, że w takich przypadkach modyfikacje w dystrybucji substancji pokarmowych są wynikiem konieczności zmian korelacji wzrostowych poszczególnych organów. Następują wówczas korekty w łańcuchu hierarchii akceptorów. W optymalnych warunkach priorytet

w hierarchii zaopatrzenia mają organy generatywne, determinujące rozmnażanie. W czasie suszy warunkiem przetrwania stresu jest szybka poprawa stosunków wodnych, uzależniona od wielkości i aktywności systemu korzeniowego. Deficyt oświetlenia narzuca konieczność usprawnienia fotosyntezy, między innymi poprzez rozbudowę powierzchni liści. Z tego wynika wniosek, że preferencję w zaopatrzeniu w substancje pokarmowe mają takie akceptory, które powodują sprawniejsze utrzymanie lub przywrócenie homeostazy całego organizmu. Wszystkie te zmiany we wzorze dystrybucji rozpoczynają się już na poziomie genetycznym, gdzie odbywa się regulacją ekspresji odpowiednich genów [32].

### **Współzależność między aktywnością akceptorów a intensywnością fotosyntezy**

Przyczyny opisywanych w literaturze rozbieżności wpływu akceptorów na proces fotosyntezy wynikają w dużym stopniu z nie zawsze prawidłowych metod pomiaru asymilacji dwutlenku węgla i oznaczania aktywności akceptorów. Tylko holistyczne rozważania mogą uchronić przed wyciągnięciem niedostatecznie udokumentowanych, a nawet błędnych wniosków, opisujących wpływ akceptorów na zmiany w aktywności procesu fotosyntezy. Jest on z reguły omawiany na podstawie pomiarów intensywności asymilacji dwutlenku węgla, często w regulowanych warunkach, panujących w kamerkach aparatu; pomiar dotyczy małego fragmentu powierzchni liścia, zwykle nie przekraczającego 2 cm<sup>2</sup>. Tymczasem tak uzyskiwany wynik intensywności fotosyntezy jest bardzo wyraźnie uzależniony od warunków środowiska, np. stężenia CO<sub>2</sub>, temperatury i oświetlenia w atmosferze otaczającej, w której umieszczona była cała roślina [65]. Nie mniejsze znaczenie ma wybór liścia z określonego piętra, pomiar nasady lub wierzchołkowej części powierzchni blaszki liściowej, drastycznie różniących się metabolizmem [8, 53], czego często nie bierze się pod uwagę w ocenie aktywności fotosyntetycznej całej rośliny.

Badania wpływu obecności akceptora na fotosyntezę są często prowadzone po usunięciu akceptorów; powoduje to czasami obniżeniem zapotrzebowaniem na fotoasymilaty w całej roślinie. W liściach nagromadzają się cukry lub skrobia i hamują fotosyntezę. Jest to zjawisko znane od okresu badań Boussingault, z drugiej połowy XIX wieku [57].

W publikacjach z lat 80. przedstawiano wyniki badań, w których obniżanie stosunku akceptor/donor drastycznie zmniejszało intensywność fotosyntezy. Przykładowo tak reagowały ogórek, bawełna i rzodkiewka. Jednocześnie w liściach tych roślin wzrastała zawartość cukrów lub skrobi. Tymczasem w analogicznych przypadkach nie stwierdzano zmian w intensywności fotosyntezy u papryki i oberżyny, u których w liściach nie gromadziła się skrobia; u fasoli fotosynteza nie ulegała zmianie, mimo że w liściach gromadziła się skrobia. Widocznie jakiś inny czynnik odgrywał tam ważną rolę, utrzymując fotosyntezę na nie zmienionym poziomie [60].

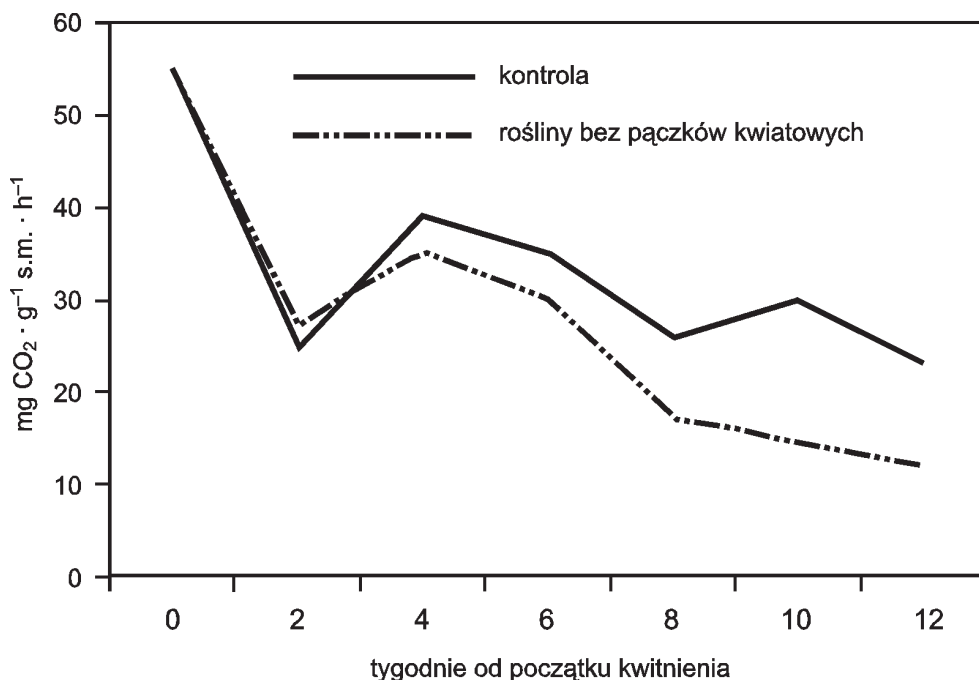
Obecnie wiadomo, że akumulacja cukrów w liściach jest sygnałem hamowania ekspresji genów fotosyntezy, co często prowadzi do zmniejszenia syntezy Rubisko lub innych enzymów uczestniczących w metabolizmie asymilacji CO<sub>2</sub> i w syntezie chlorofilu. Zahamowana może też być synteza sacharozy i jej transporterów, uczestniczących w załadunku sacharozy do rurek sitowych [57].

Traktowanie fasoli sacharozą, symulującą nadprodukcję fotoasymilatów, powodowało hamowanie fotosyntezy, ale tylko w liściu-donorze między innymi na skutek obniżenia zawartości Rubisko. W rosnących liściach-akceptorach obserwowano natomiast zwiększenie intensywności asymilacji dwutlenku węgla i wzrostu tych organów [1]. Obcinanie strąków u fasoli powodowało hamowanie fotosyntezy, oraz gromadzenie w liściach skrobi. Jednoczesne bardzo silne ocienienie badanych roślin zmniejszało efekt braku akceptora [50]. Zmniejszanie liczby kwiatów, w skrajnych przypadkach do jednego, na roślinie złocienia powodowało gromadzenie się skrobi w liściach [6].

W siewkach cytryn zaburzony bilans donor-akceptor uzyskiwano w rozmaity sposób: przez usuwanie części owoców, obrączkowanie pędu, częściową defoliację. Zmniejszona aktywność akceptorów powodowała akumulację cukrów i skrobi w liściach i obniżenie intensywności fotosyntezy. Podobny efekt uzyskiwano po traktowaniu roślin sacharozą, co ciekawe nawet przy niezmienionych akceptorach. Potwierdza to znów specyficzną, sygnałową funkcję cukrów [7].

Akumulacja skrobi w blaszkach liściowych w wielu przypadkach może być też związana ze wspomnianą już ich funkcją jako „buforowego donora”. Skrobia w różnego typu modyfikacjach stosunków donor-akceptor spełnia kluczową rolę. Stanowi ona bezpośrednio „punkt kontrolny” w regulacji poziomu cukrów, a pośrednio – w regulacji dystrybucji fotoasymilatów i to począwszy już od poziomu ich eksportu z chloroplastów [68]. Skrobia jest również akumulowana w liściach w czasie różnych stresów: suszy, zwiększonego stężenia CO<sub>2</sub>, deficytowego poziomu azotu i in. [21, 57]. W warunkach nadmiernej produkcji fotosyntetycznej, przekraczającej w danym momencie zapotrzebowanie wszystkich akceptorów, skrobia stanowi pulę zapasów substancji pokarmowych, które mogą być wykorzystywane w czasie ponownego wzrostu aktywności akceptorów.

W badaniach Starck i in. [70] sukcesywne obrywanie pączków kwiatowych pomidorów, uniemożliwiające powstawanie owoców, zmodyfikowało charakter wzrostu całej rośliny. Stymulowany był wzrost organów wegetatywnych przy zbliżonej produkcji biomasy w roślinach serii kontrolnej i pozbawionych organów reproduktywnych. W pierwszych tygodniach od początku kwitnienia intensywność fotosyntezy utrzymywała się prawie na takim samym poziomie u obu serii doświadczalnych. Dopiero po 4 tygodniach intensywność fotosyntezy pomidorów pozbawionych owoców stopniowo obniżała się (rys. 2). Ponieważ jednak rośliny nie kwitnące miały znacznie większą powierzchnię liści, w sumie wytwarzały zbliżoną ilość fotoasymilatów. Z tego jasno wynika, że rośliny pomidora pozbawione organów reproduktywnych, zmieniły wzór dystrybucji fotoasymilatów. W takich przypadkach modyfikacje



**Rysunek 2.** Przebieg fotosyntezy w liściach pomidora w czasie 12 tygodni od początku kwitnienia

intensywności asymilacji CO<sub>2</sub> kompensowane są przez sumaryczną wielkość powierzchni asymilacyjnej.

Analiza zależności między aktywnością fotosyntezy a wielkością zapotrzebowania na fotoasymilaty przez wszystkie akceptory wymaga ponownego spojrzenia. Nie wystarczająca jest informacja o intensywności fotosyntezy w jednym czy nawet w kilku fragmentach liścia. W ocenie tego typu zależności uwzględniona musi być asymilacja CO<sub>2</sub> we wszystkich zielonych organach, przebiegająca w ciągu całego dnia i aktywność wszystkich akceptorów. Wzrost ich biomasy może być wyrażony np. jako względna intensywność wzrostu (RGR). W obszernych badaniach Krugel i Volin [33] wykazali bardzo ścisłą zależność między fotosyntezą, obliczoną w przeliczeniu na masę całej rośliny i na cały dzień i względną intensywnością wzrostu (RGR); współczynnik determinacji wynosił  $r^2 = 0,93$ . Wartość ta oparta jest na pomiarach wykonanych na 56 gatunkach roślin. Analogiczny współczynnik determinacji, obliczony dla zależności między fotosyntezą, przeliczoną tylko na powierzchnię liści i RGR wynosił  $r^2 = 0,36$ .

Ocena bilansu donor/akceptor na podstawie doświadczeń, w których usuwany jest jeden z organów (np. defoliacja lub odcinanie owoców) nasuwa krytyczne uwagi. Eliminowane są bowiem wszystkie jego biologiczne funkcje. Obraz reakcji rośliny na taki zabieg, szczególnie przy długotrwałych doświadczeniach, nie jest wówczas prawidłowy [43].

## Znaczenie dystrybucji substancji pokarmowych w plonowaniu roślin

Odpowiedzi na podstawowe pytanie czy fotosynteza jest kluczowym procesem determinującym wielkość plonu rolniczego są szczegółowo dyskutowane zarówno w starszej jak i najnowszej literaturze [36 i tam cytowane prace, 41]. Zdziwiałoby natomiast fakt, że znacznie mniej uwagi poświęcono dystrybucji wytworzonych fotoasymilatów i jonów pobranych z podłoża jako kluczowych procesów determinujących plon [41, 68, 77]. Tymczasem wiele badań, mających na celu zwiększanie i polepszanie jakości plonu sprowadza się do usprawniania transportu floemowego i modyfikacji dystrybucji substancji pokarmowych metodami klasycznej hodowli lub za pomocą inżynierii genetycznej [23, 46]. Zwiększenie plonowania roślin można uzyskać usprawniając proces transportu substancji pokarmowych i tak modyfikując dystrybucję aby zwiększyć zaopatrzenie akceptora, który jest organem stanowiącym plon rolniczy.

Okres wielkich osiągnięć badań biologii molekularnej i dotyczących modyfikacji genetycznych w oderwaniu od biologii całej rośliny kończy się. W poszukiwaniu metod poprawy plonowania pojawia się konieczność bardzo ścisłej integracji badań na różnych poziomach organizacji życia roślin. Dotyczy to ścisłego współdziałania: genetyków molekularnych, biochemików i fizjologów roślin oraz hodowców [11, 31, 46]. Mimo biologicznej złożoności procesów powstawania plonu, wprowadzenie do rośliny nawet tylko jednego genu może spowodować jego zwiększenie [23]. Najpilniejszym zadaniem zintegrowanych dyscyplin biologicznych w najbliższej przyszłości jest jednak nie tylko decyzja wyboru genu do transgenicznego zabiegu, lecz również szczegółowe poznanie funkcji jego produktów. Ważny jest bezpośredni lub pośredni wpływ nowo powstających metabolitów lub enzymów na różne procesy w tym na dystrybucję substancji pokarmowych. W zależności od charakteru uprawy, modyfikowana jest aktywność enzymów metabolizmu cukrowców, syntezy i degradacji skrobi, inwertazy, syntazy sacharozy i innych. Nie mniejsze znaczenie mają sprawnie działające transportery cukrów [77].

Pojawia się też konieczność zbadania reakcji rośliny na wprowadzony gen w różnych warunkach środowiska, szczególnie w uprawach pod osłonami lub w polu, szczególnie w czasie stresów.

Na specjalną uwagę w ocenie roli dystrybucji fotoasymilatów w plonowaniu roślin zasługuje znaczenie architektury rośliny, a w warunkach polowych – architektury łąnu. Deficyt światła powoduje elongację łodygi i ogonków liściowych czy źdźbła u zbóż. Są one wynikiem zmian w intensywności i charakteru wzrostu poszczególnych organów. Tego typu reakcje fotomorfogenetyczne roślin wiążą się z koniecznością niekorzystnych dla rolnika zmian w dystrybucji fotoasymilatów, regulowanych w roślinie przez tak zwane „klucze dystrybucji”. Stąd wynikają próby modyfikacji genetycznych, powodujących zmniejszenie wrażliwości roślin na obni-



żenie stosunku światła czerwonego do dalekiej czerwieni (R/FR), regulowanej przez fitochromy [77 i tam cytowane prace].

Celowość modyfikacji architektury rośliny przez hodowców często wynika z różnego wykorzystywania upraw. Jako przykład kukurydza uprawiana na ziarno powinna mieć ograniczony wzrost organów wegetatywnych w przeciwieństwie do upraw na paszę, gdzie dominującym akceptorem fotoasymilatów jest pęd. W obu przypadkach różny jest współczynnik plonowania (HI) bo inne orany stanowią plon rolniczy.

Wartość HI mieści się w bardzo szerokich granicach. U dzięki formy ziemniaka wynosi tylko 0,07 natomiast u wydajnych odmian może przekraczać 0,8. Dla pszenicy przeciętne wartości HI wynoszą ok. 0,46 [19]. Pomidory charakteryzują się przeciętnie zmianami wielkości HI od 0,23 do 0,44. W naszych doświadczeniach HI dla form karłowatych wynosił ponad 0,6 (Starck i Stahl, nie publikowane dane). Obserwowany wzrost wartości HI wynika między innymi z bardziej korzystnego dla rolnika wzoru dystrybucji fotoasymilatów i prawidłowego zaopatrywania akceptorów w składniki mineralne [41, 40]. Podobny pogląd prezentuje Wenzel i in.[79]; usprawnienie dystrybucji jest w dużym stopniu uzależnione od intensywnego pobierania składników mineralnych i adaptacji roślin do stresów.

## Podsumowanie

Dystrybucja fotoasymilatów w roślinach w ścisłej i złożonej integracji z fotosyntezą jest podstawowym procesem determinującym wielkość plonu rolniczego, co można streścić w następujących punktach.

1. Celem optymalnej realizacji dystrybucji w warunkach naturalnych jest utrzymanie homeostazy organizmu, zapewniającej prawidłowy przebieg wszystkich procesów życiowych.
2. W warunkach upraw rolniczych zmodyfikowanym celem dystrybucji jest wytworzenie maksymalnego plonu przy minimalnych zaburzeniach homeostazy.
3. Warunkiem zaopatrzenia organu w substancje pokarmowe jest jego fizjologiczna aktywność, różna w poszczególnych typach akceptorów.
4. Priorytet zaopatrzenia w warunkach zbliżonych do optymalnych jest uzależniony od fizjologicznej funkcji organu w określonym etapie ontogenezy rośliny.
5. W czasie stresów priorytet w zaopatrzeniu mają akceptory zabezpieczające roślinę przed uszkodzeniami lub obniżające skutki uszkodzeń stresowych.
6. Regulacja „wzoru dystrybucji” rozpoczyna się już na poziomie liści-donorów, w samych akceptorach, a pośrednio odbywa się również we floemie.
7. Na szczególne podkreślenie zasługuje rola tak zwanych alternatywnych akceptorów, pojawiających się po zaatakowaniu rośliny przez patogeny lub szkodniki. Roślina zaopatruje w substancje pokarmowe „intruza” kosztem naturalnych akceptorów, przy jednoczesnej aktywnej obronie własnego organizmu.

## Literatura

- [1] Araya T., Noguchi K., Tarashima I. 2006. Effects of carbohydrate accumulation on photosynthesis differ between sink and source leaves of *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Cell Physiol.* 47(5): 644–652.
- [2] Bangerth F. 1989. Dominance among fruit/sink and search for a correlative signal. *Physiol. Plantarum* 76: 608–614.
- [3] Bangerth F., Ho L.C. 1984. Fruit position and fruit set sequence in a truss as factors determining final size of tomato fruits. *Ann. Bot.* 53: 315–319.
- [4] Berger S., Sinha A.K., Roitsch T. 2007. Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant-pathogen interactions. *J. Exp. Bot.* 58: 4016–4026.
- [5] Black M., Edelman J. 1970. Plant growth. Heineman Educational Books.
- [6] Carvalho S.M.P., Heuvelink E., Harbinson J., van Kooten O. 2006. Role of sink-source relationships in chrysanthemum flower size and total biomass production. *Physiol. Plantarum.* 128: 263–273.
- [7] Ciereszko I. 2002. Regulacyjna rola cukrów. Percepcja cukrów i przekazywanie sygnału w komórkach roślinnych. *Postępy Biologii Komórki* 29: 269–289.
- [8] Czarnowski M. 1980. Fotosynteza a produktywność roślin warzywnych. *Biul. Warzyw.* 14: 15–83.
- [9] Deeken R., Engelmann J.C., Efetova M., Czirik T., Müller T., Kaiser W.M., Tietz O., Krischke M., Mueller M.J., Palme K., Dandekar T., Hedrich R. 2006. An integrated view of gene expression and solute profiles of *Arabidopsis* tumors: a genome-wide approach. *Plant Cell* 18: 3617–3634.
- [10] Dorchin N., Cramer M.D., Hoffmann J.H. 2006. Photosynthesis and sink activity of wasp-induced galls in *Acacia pycnantha*. *Ecology.* 87: 1781–1791.
- [11] Edmeades G.O., McMaster G.S., White J.W., Campos H. 2004. Genomics and the physiologist: bridging the gap between genes and crop response. *Field Crop Research.* 90: 5–18.
- [12] Ehness R., Roitsch T. 1997. Co-ordinated induction of mRNAs for extracellular invertase and a glucose in *Chenopodium rubrum* by cytokinins. *Plant J.* 11: 539–548.
- [13] Engelbrecht L. 1971. Cytokinin activity in larval infected leaves. *Biochemie Physiologie Pflanzen.* 162: 9–27.
- [14] Engels C., Marschner H. 1987. Effects of reducing leaf area and tuber number on the growth rates of tubers on individual potato plants. *Potato Res.* 30: 177–189.
- [15] Farrar J.F. 1992. The whole plant: carbon partitioning during development. 163–179. W: Carbon partitioning. Pollock C.J., Farrar J.F., Gordon A.J. (red.) Bios Scientific Publishers. Oxford U.K.
- [16] Farrar J.F. 1993. Sink strength: What is it now and how do we measure it? Introduction. Forum. *Plant, Cell Environ.* 16: 1015.
- [17] Farrar J.F. 1993. Sink strength: What is it and how do we measure it? A summary. Forum. *Plant, Cell Environ.* 16: 1045–1046.
- [18] Farrar J.F. 1996. Sink – integral parts of a whole plant. *J. Exp. Bot.* 47: 1273–1279.
- [19] Frommer W.B., Sonniewald U. 1995. Molecular analysis of carbon partitioning in solanaceous species. *J. Exp. Bot.* 46: 587–607.
- [20] Geiger D.R., Kock K.E., Shieh W.J., 1996. Effect of environmental factors on whole plant assimilate partitioning and associated gene expression. *J. Exp. Bot.* 47: 1229–1238.
- [21] Geiger D.R., Servaites J.C., Fuchs M.A. 2000. Role of starch in carbon translocation and partitioning at the plant level. *Aust. J. Plant Physiol.* 27: 571–582.
- [22] Geiger D.R., Shieh W.J. 1993. Sink strength: Learning to measure, measuring to learn. Forum. *Plant Cell Environ.* 16: 1017–1118.
- [23] Gepts P. 2002. A comparison between crop domestication, classical plant breeding, and genetic engineering. *Crop Sci.* 42: 1780–1790.
- [24] Gleadow R.M., Dalling M.J., Halloran G.M. 1982. Variation in endosperm characteristics nitrogen content in six wheat lines. *Aust. J. Plant Physiol.* 9: 539–551.
- [25] Guivarc’h A., Rembur J., Goetz M., Roitsch T., Noin M., Schmölling T., Chriqui D. 2002. Local expression of the ipt gene in transgenic tobacco (*Nicotiana tabacum* L. cv. SR1) axillary buds establishes a role for cytokinin in tuberization and sink formation. *J. Exp. Bot.* 53: 621–629.
- [26] Hellmann H., Barker L., Funck D., Frommer W.B. 2000. The regulation of assimilate allocation and transport. *Aust. J. Plant Physiol.* 27: 583–594.
- [27] Ho L.C. 1992. Fruit growth and sink strength. 101–124. Fruit and seed production. Ed. Marshall C., Grace J. Cambridge University Press. Great Britain.

- [28] Hosseini S.M., Poustini K., Ahmadi A. 2008. Effects of foliar application of BAP on source and sink strength in four six-rowed barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars. *Plant Growth Regul.* 54: 231–239.
- [29] Hubbard N.L., Pharr D.M., Huber S.C. 1991. Sucrose phosphate synthase and other sucrose metabolizing enzymes in fruit of various species. *Physiol. Plantarum* 82: 191–196.
- [30] Iglesias D.J., Lliso I., Tadeo F.R., Talon M. 2002. Regulation of photosynthesis through source : sink imbalance in citrus is mediated by carbohydrate content in leaves. *Physiol. Plantarum* 116: 563–572.
- [31] Kalaji M.H., Pietkiewicz S. 2004. Review: some physiological indicators to be exploited as a crucial tool in plant breeding. *Plant Breeding and Seed Science* 49: 19–39.
- [32] Koch K.E. 1996. Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47: 509–540.
- [33] Kruger E.L., Volin J.C. 2006. Reexamining the empirical relation between plant growth and leaf photosynthesis. *Functional Plant Biology* 33: 421–429.
- [34] Kuiper O. 1993. Sink strength: established and regulatory by plant growth regulators. *Plant Cell Env.* 16: 1025–1026.
- [35] Lara E.M., Garcia M.C.G., Fatima T., Ehne? R., Lee T.K., Proels R., Tanner W., Roitsch T. 2004. Extracellular invertase is an essential component cytokinin-mediated delay of senescence. *Plant Cell.* 16: 1276–1287.
- [36] Long S.P., Zhu X., Naidu S.L., Ort D.L. 2006. Can improvement of photosynthesis increase crop yields? *Plant Cell Env.* 29: 315–330.
- [37] Malsy S., van Bell A.J.E., Kluge M., Hartung W., Ullrich C.L. 1992. Induction of crown galls by *Agrobacterium tumefaciens* (strain C58) reverses assimilate translocation and accumulation in *Kalanchoe daigremontiana*. *Plant Cell Environment.* 15: 519–529.
- [38] Marcelis L.F.M. 1993. Effect of assimilate supply on the growth of individual cucumber fruits. *Physiol. Plantarum.* 87: 313–320.
- [39] Marcelis L.F.M. 1993. Simulation of biomass allocation in greenhouse crops – a Review. *Acta Hort.* 328: 49–66.
- [40] Marschner H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Acad. Press.
- [41] Mengel K., Kirkby E.A., Kosegarten H., Appel T. 2001. Plant growth and crop production. 243–335. W: Principles of Plant Nutrition. 5-th Edition. Kluwer Academic Publishers.
- [42] Minchin P.E.H., Thorpe M.R. 1996. What determines carbon partitioning between competing sinks? *J. Exp. Bot.* 47: 1293–1296.
- [43] Minchin P.E.H., Thorpe M.R., Farrar J.F. 1993. A simple mechanistic model of phloem transport which explains sink priority. *J. Exp. Bot.* 44: 947–955.
- [44] Minchin P.E.H., Thorpe M.R., Farrar J.F. 1994. Short-term control of roots : shoot partitioning. *J. Exp. Bot.* 45: 615–622.
- [45] Mistrik J., Pavlovkin J., Wächter R., Pradel K.S., Schwalm K., Hartung W., Mathesius U., Stöhr C., Ullrich C.J. 2000. Impact of *Agrobacterium tumefaciens* – induced stem tumors on NO<sub>3</sub> uptake in *Ricinus communis*. *Plant and Soil* 226: 87–98.
- [46] Moose S.P., Mumm R.H. 2008. Molecular plant breeding as the foundation for 21st century crop improvement. *Plant Physiol.* 147: 969–977.
- [47] Morandi B., Grappadelli L.C., Rieger M., Bianco R.L. 2008. Carbohydrate availability affects growth and metabolism in peach fruit. *Physiol. Plantarum* 133: 229–241.
- [48] Morris D.A. 1996. Hormonal regulation of source-sink relationships: an overview of potential control mechanism. Photoassimilate distribution in plants and crops. Zamsky E., Schaffer A.A. (red.), Marcel Dekker Inc. New York.
- [49] Mothes K., Engelbrecht L. 1961. Kinetin-induced directed transport of substances in excised leaves in the dark. *Phytochemistry* 1: 58–62.
- [50] Nakano H., Muramatsu S., Makino A., Mae T. 2000. Relations between the suppression of photosynthesis and starch accumulation in the pod-removed bean. *Aust. J. Plant Physiol.* 27: 167–173.
- [51] Nicolàs E., Lescourret F., Genard M., Bussi C., Basset J. 2000. Does dry matter partitioning to fruit in early- and late-ripening peach (*Prunus persica*) cultivars confirm the branch autonomy theory? *J. Hort. Sci. Biotechnology* 81: 444–448.
- [52] Nielsen T.H., Skjaerbeck H.C., Karlsen P. 1991. Carbohydrate metabolism during fruit development in sweet pepper (*Capsicum annuum*) plants. *Physiol. Plantarum* 82: 311–319.
- [53] Nielsen T.H., Veierskov B. 1990. Regulation of carbon partitioning in source-sink leaf parts in sweet pepper (*Capsicum annuum*). *Plant Physiol.* 93: 637–641.

- [54] Niemyska B., Starck Z. 1988. Effect of GA3 on photosynthate allocation and invertase activity in radish plants grown on different potassium levels. *Acta Soc. Bot. Pol.* 57: 523–538.
- [55] Offler C.E., Thorpe M.R., Patrick J.W. 2000. Assimilate transport and partitioning. Integration of structure, physiology and molecular biology. *Aust. J. Plant Physiol.* 27: 473–476.
- [56] Parys E., Ostrowska E. 1976. Działanie regulatorów wzrostu na fotosyntezę, fotooddychanie i oddychanie. Cz. I. Fotosynteza. *Wiadomości Bot.* 20: 17–38.
- [57] Paul M.J., Foyer C.H. 2001. Sink regulation of photosynthesis. *J. Exp. Bot.* 52: 1383–1400.
- [58] Paul M.J., Pellny T.K. 2003. Carbon metabolite feedback regulation of leaf photosynthesis and development. *J. Exp. Bot.* 54: 539–547.
- [59] Pego J.V., Kortstee A.J., Huijser C., Smeekens C.M. 2000. Photosynthesis, sugars and the regulation of gene expression. *J. Exp. Bot.* 51: 407–416.
- [60] Plaut Z., Mayoral M.L., Reinhold L. 1987. Effect of altered sink : source ratio on photosynthetic metabolism of source leaves. *Plant Physiol.* 83: 786–791.
- [61] Quereix A., Dewar R.C., Gaudillere J.P., Dayau S., Valancogne C. 2001. Sink feed-back regulation of photosynthesis in vines: measurement and a model. *J. Exp. Bot.* 52: 2313–2322.
- [62] Richings E.W., Cripps R.F., Cowan A.K. 2000. Factors affecting „Hass” avocado fruit size: Carbohydrate, abscisic acid and isoprenoid metabolism in normal and phenotypically small fruit. *Physiol. Plantarum* 109: 81–89.
- [63] Roitsch T., Ehness R. 2000. Regulation of source/sink relations by cytokinins. *Plant Growth Regulation* 32: 356–367.
- [64] Roitsch T., Balibrea M.E., Hofmann M., Proels R., Sinha A.K. 2003. Extracellular invertase: key metabolic enzyme and PR protein. *J. Exp. Bot.* 54: 513–524.
- [65] Sims D.A., Luo Y., Seemann J.R. 1998. Importance of leaf versus whole plant CO<sub>2</sub> environment for photosynthetic acclimation. *Plant Cell Environment* 21: 1189–1196.
- [66] Stahl E. 1988. Wpływ regulatorów wzrostu na fotosyntezę, dystrybucję asymilatów i plonowanie różnych form pomidorów. Praca doktorska. Katedra Fizjologii Roślin SGGW. Warszawa: 1–121.
- [67] Starck Z. 1976. Różne aspekty wpływu regulatorów wzrostu na fotosyntezę i przemieszczanie metabolitów. *Wiadomości Bot.* 20: 81–95.
- [68] Starck Z. 2003. Transport i dystrybucja substancji pokarmowych w roślinach. Wydawnictwo SGGW.
- [69] Starck Z. 2008. Funkcja tkanek przewodzących: zaopatrzenie w substancje pokarmowe i udział w koordynacji procesów w roślinach. *Kosmos* 57: 67–83.
- [70] Starck Z., Kozińska M., Szaniawski R. 1979. Photosynthesis in tomato plants with modified source-sink relationship. W: Photosynthesis and plant development. R. Marcelle, H. Clijsters, M. Van Poucke, Dr Junk W. bv. Publishers, The Hague: 233–241.
- [71] Starck Z., Stahl E., Witek-Czupryńska B. 1987. Competitive ability of clusters in tomato plants with source-sink relation modulated by irrigation and exogenous growth regulators. *Acta Physiol. Plant.* 9: 89–99.
- [72] Starck Z., Ważyńska Z., Kucewicz O., Witek-Czupryńska B. 1990. Effect of growth conditions on anatomy and photosynthate partitioning in tomato plants with growth regulator treated flowers. *Acta Physiol. Plant.* 12: 49–58.
- [73] Starck Z., Ważyńska Z., Kucewicz O., Witek-Czupryńska B. 1990. Relationships between fruit growth and anatomical structure of pedicels in tomato plants. *Acta Physiol. Plant.* 12: 59–66.
- [74] Sturm A., Tang G.Q. 1999. The sucrose-cleaving enzymes of plant are crucial for development, growth and carbon partitioning. *Trends in Plant Science*. Review. 4: 401–407.
- [75] Thorpe M.R., Minchin P.E.H., Gould N., McQueen J.A. 2005. The stem apoplast a potential communication channel in plant growth regulation. W: Vascular transport in plants. Holbrook N.M., Zwieniecki M.A. Oxford. Elsevier/AP co-imprint.
- [76] Usuda H., Rouhier H., Demura T., Fukuda H. 1999. Development of sink capacity of the „storage root” in a radish variety with a low ratio of „storage root” to shoot. *Plant Cell Physiol.* 40(12): 1210–1218.
- [77] Van Camp W. 2005. Yield enhancement genes: seeds for growth. *Current Opinion in Biotechnology* 16: 147–153.
- [78] Wardlaw I.F. 1990. The control of carbon partitioning in plants. *New Phytol.* 116: 341–381.
- [79] Wenzel G., Frei U., Lübberstedt T., Mohler V., Thümmel F. 2001. Plant breeding at the onset of the 3rd millennium. 13–25. Mat. Konf. Plant Breeding and Acclimatization. 50-lecie IHAR.
- [80] Werner T., Holst K., Pörs Y., Guivarc’h A., Mustroph A., Chriqui D., Grimm B., Schülling T. 2008. Cytokinin deficiency causes distinct changes of sink and source parameters in tobacco shoot and roots. *J. Exp. Bot.* 59: 2659–2672.

- [81] Woodrow L., Thompson R.G., Grodziński B. 1988. Effects of ethylene on photosynthesis and partitioning in tomato (*Lycopersicon esculentum* MILL.). *J. Exp. Bot.* 39: 667–684.
- [82] Yang J., Zhang J., Wang Z., Zhu Q. 2003. Hormones in the grains in relation to sink strength and postanthesis development of spikelets in rice. *Plant Growth Regulation.* 41: 185–195.
- [83] Yelle S., Hewitt J.D., Robinson N.L., Damon S., Bennett A.B. 1988. Sink metabolism in tomato fruit. *Plant Physiol.* 87: 737–740.

## Distribution of photoassimilates as an important determinant of crop yielding

**Key words:** sink activity, photosynthates, enzymes, hormones

### Summary

Photosynthesis and photosynthate distribution are the main processes in crop production. On the basis of sink activity the crop yield could be predicted. This activity, incorrectly called sink strength, depends on sink growth, respiration and capacity to convert photosynthates into yield products. The pattern of photosynthate partitioning is regulated by hormones in integrations with the enzymes which take part in sink metabolism. This pattern changes during plant ontogenesis and under variable environmental conditions, including stresses. Important progress in improving crop yield seems to be done using integration of classical plant breeding with genetic engineering methods.



## **Najważniejsze wirusy i wiroidy chryzantem ze szczególnym uwzględnieniem tego problemu w Polsce**

*Selim Kryczyński*

*Katedra Fitopatologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego,  
ul. Nowoursynowska 159, 02-787 Warszawa  
e-mail: kryczyński@post.pl*

**Słowa kluczowe:** wirusy i wiroidy chryzantem, CVB, TAV, TSWV, CSVd, CCMVd, wykrywanie, ochrona

### **Wstęp**

Chryzantemy należą do grupy najbardziej popularnych roślin ozdobnych w wielu krajach świata. W Polsce zalicza się je też do roślin zajmujących czołowe pozycje, zarówno pod względem powierzchni uprawy w szklarniach, jak i pod względem liczby wyprodukowanych i sprzedanych roślin. Naturalna pora kwitnienia przyczyniła się do trwałego ich skojarzenia ze Świętem Zmarłych. Jednak już dawno musiały być też lubiane jako rośliny dekoracyjne, o czym świadczy tekst popularnej niegdyś piosenki, w której „chryzantemy złociste w kryształowym wazonie stoją na fortepianie”. Od dawna już znana jest metoda sterowania porą kwitnienia chryzantem i otrzymanie kwitnących roślin możliwe jest praktycznie w każdej porze roku. Obok tradycyjnych wielkokwiatowych odmian pojawiły się także odmiany o drobniejszych, ale bardzo licznych kwiatach tworzących wspaniałe, kopulaste formy dekoracyjne. Tym niemniej czy to z powodu tradycji, czy z powodu konkurencji wielu nowych, atrakcyjnych gatunków roślin ozdobnych, które w tym czasie pojawiły się w sprzedaży nadal chryzantemy królują na cmentarzach w okolicy 1 listopada, choć kwiaty te można dostać w kwaciarniach i w innych porach roku.

Produkcję chryzantem w Polsce, zwłaszcza od czasu kiedy jesteśmy krajem członkowskim Unii Europejskiej, w której obowiązują bardzo rygorystyczne przepisy w zakresie kwarantanny roślin, komplikują mocno choroby powodowane przez wirusy i wiroidy. Jedną z tych chorób, karłowatość chryzantemy, stała się na przełomie lat 40. i 50. XX wieku przyczyną przerwania produkcji sadzonek przez

amerykańską firmę Yoder Brothers na parę lat [8]. Wirusowymi chorobami chryzantem zajmowałem się przez cały okres swojej pracy na polu wirusologii roślinnej. Pierwsze moje publikacje z tej dziedziny powstały w wyniku rocznej pracy w grupie Profesora A. Watsona Dimocka znanego powszechnie specjalisty w zakresie chorób chryzantem [31, 41].

Po powrocie do kraju kontynuowałem te badania w Katedrze Fitopatologii SGGW, czego wynikiem były prace magisterskie, doktorskie i kolejne publikacje. W ciągu tego czasu w tej dziedzinie zmieniło się bardzo wiele. Zmieniła się nawet i łacińska i polska nazwa rośliny, której choroby były przedmiotem badań. W nomenklaturze łacińskiej funkcjonowała nazwa *Chrysanthemum morifolium* RAMAT. Po polsku przez długi czas roślina ta nazywała się złocien, a przynajmniej taką nazwę zalecano w podręcznikach roślin ozdobnych, gdyż nawiązywała do znaczenia łacińskiej nazwy tego gatunku (*chryzos* z greckiego znaczy złoto). Znalazło to odzwierciedlenie również w zalecanych nazwach wirusowych chorób tej rośliny [7]. Później zwyciężył rozsądek i oficjalnie roślina ta nazywa się tak, jak nazywa się popularnie – chryzantema [33]. Specjaliści od taksonomii roślin doszli tymczasem do wniosku, że właściwą nazwą gatunkową tej rośliny jest *Dendranthema grandiflora* (D.C.) DESMOUL. Znaczenie tej nazwy należałoby tłumaczyć jako drzewiasty wielki kwiat (*dendron* = drzewo, *anthos* = kwiat, *grandis* = wielki).

Przeglądy literatury o wirusowych chorobach chryzantem były publikowane w polskim piśmiennictwie naukowym [34, 37]. Od tego czasu nagromadziło się jednak wiele nowych informacji, co uzasadnia nowe ujęcie tego tematu.

## **Charakterystyka najważniejszych wirusów i wiroidów występujących na chryzantemach oraz objawy powodowane przez te patogeny**

W literaturze światowej znaleźć można doniesienia o kilkunastu różnych wirusach lub wiroidach wyizolowanych z roślin chryzantem. Niektóre z nich znalazły się tam zupełnie przypadkowo, inne pojawiają się na chryzantemach zupełnie sporadycznie, a jeszcze inne okazały się szczepami, czy izolatami wirusów bardziej znanych jako patogeny chryzantem. Ważnymi czynnikami chorobotwórczymi tych roślin są trzy wirusy i dwa wiroidy, których nazwy i pozycję taksonomiczną [18, 39] przedstawiono w tabeli 1.

**Wirus aspermy pomidora (TAV)** należy do najdawniej stwierdzonych wirusów w uprawach chryzantem, bo pierwsza wzmianka o nim, autorstwa I.W. Selmana pochodzi z 1940 roku [11, 24]. W starszych opisach bywa mylony z blisko z nim spokrewnionym wirusem mozaiki ogórka. Cząstki wirusa są typowe dla rodzaju *Cucumovirus*, to znaczy izometryczne, o średnicy około 25 nm. Poszczególne segmenty podzielonego genomu upakowane są w odrębnych cząstkach. We wszystkich



przypadkach jest to ssRNA posiadający czapkę na końcu 5'. Końce 3' są podobne strukturalnie do tRNA. RNA-1 jest najdłuższy (średnio około 3,4 kb) i ulega translacji bezpośrednio do białka 1a o masie 110 kDa i funkcjach metylotransferazy i helikazy. Nieco krótszy RNA-2 (około 3,1 kb) też ulega bezpośredniej translacji do białka polimerazy RNA o masie 92 kDa. Końcowy fragment sekwencji RNA-2 podlega transkrypcji do sgRNA, który ulega translacji do białka 2b o masie 11 kDa, które odgrywa rolę w ochronie wirusa przed inaktywacją w procesie potranskrypcyjnego wyciszania genów. Najkrótszy RNA-3 (średnio około 2,2 kb) korzysta z różnych strategii ekspresji. Sekwencja bliższa końca 5' podlega bezpośredniej translacji do białka transportowego o masie 30,5–36,5 kDa. Natomiast sekwencja bliższa końca 3' podlega transkrypcji do sgRNA, z którego w wyniku translacji powstaje białko kapsydu [18].

**Tabela 1.** Najważniejsze wirusy i wiroidy chryzantem i ich pozycje taksonomiczne [18, 39]

| Nazwa wirusa/wiroida                         | Akronim | Rodzaj              | Rodzina              | Nazwa polska                              |
|--|---------|---------------------|----------------------|---|
| <i>Tomato aspermy virus</i>                  | TAV     | <i>Cucumovirus</i>  | <i>Bromoviridae</i>  | wirus aspermy pomidora                    |
| <i>Chrysanthemum virus B</i>                 | CVB     | <i>Carlavirus</i>   | <i>Flexiviridae</i>  | wirus B chryzantemy                       |
| <i>Tomato spotted wilt virus</i>             | TSWV    | <i>Tospovirus</i>   | <i>Bunyaviridae</i>  | wirus brązowej plamistości pomidora       |
| <i>Chrysanthemum stunt viroid</i>            | CSVd    | <i>Pospiviroid</i>  | <i>Pospiviroidae</i> | wiroid karłowatości chryzantemy           |
| <i>Chrysanthemum chlorotic mottle viroid</i> | CChMVd  | <i>Pelamoviroid</i> | <i>Avsunviroidae</i> | wiroid chlorotycznej pstrości chryzantemy |

Wirus ten występuje wszędzie na świecie, gdzie tylko uprawia się chryzantemy i ciągle jeszcze jest dość rozpowszechniony. Objawy na liściach chryzantem są bardzo słabo widoczne i to tylko w okresie, kiedy rośliny są bardzo młode. Mogą to być bardzo słabo widoczne mozaiki, chlorozy lub przejaśnienia nerwów. U starszych roślin żadnych objawów na liściach nie ma [8, 24, 27]. TAV wywołuje natomiast u wielu odmian chryzantem widoczne zniekształcenia kwiatostanów. Kwiatki w środkowej części koszyczka są bardziej stłoczone, a zewnętrzne kwiatki języczkowe mogą być różnej długości, co w efekcie wygląda tak, jakby koszyczek był nierównomiernie rozwinięty. U słabiej reagujących odmian objawy ograniczają się do po-falowania lub skędzierzawienia kwiatów języczkowych. Niektóre odmiany reagują zmianą barwy kwiatów [8, 24].

W warunkach eksperymentalnych TAV jest dość łatwo przenoszony mechanicznie, choć ten sposób przenoszenia zapewne ma znikome znaczenie w warunkach uprawy roślin. W praktyce wirus rozprzestrzenia się dzięki przenoszeniu przez mszyce na klujkach, jako tzw. wirus nietrwały. Wirus ten przenosić mogą wszystkie gatunki mszyc żerujących na chryzantemach, choć najefektywniejszymi wektorami są *Aphis gossypii* i *Macrosiphum euphorbiae* [11, 24]. Oczywiście, wirus przenosi się niezawodnie w sadzonkach zebranych z roślin chorych. Źródłem infekcji dla chryzantem mogą być czasem inne gatunki roślin będących żywicielami TAV. W piśmien-

nictwie światowym można znaleźć prace, z których wynika, że TAV jest polifagiem o szerokim zakresie żywicieli. Wśród najważniejszych roślin żywicielskich wymieniane są: pomidor, papryka, sałata, szpinak, soja, aksamitka, cynia, floks, lak, margerytka, nasturcja, oset, petunia, psianka czarna, starzec, suchołuska i zawilec [24]. Doniesienia te należy jednak traktować ostrożnie, bo TAV bywał mylony z bardzo blisko z nim spokrewnionym wirusem mozaiki ogórka.

**Wirus B chryzantemy (CVB)** został pod tą nazwą opisany przez Noordama [52] i dlatego bywał nazywany również wirusem B Noordama. Choroba powodowana przez ten wirus bywa nazywana łagodną mozaiką chryzantem. Wirusy wywołujące podobne objawy opisywano pod różnymi nazwami [10]. Dopiero serologiczne porównanie tych różnych izolatów wirusów doprowadziło do uznania, że są to izolaty wirusa B chryzantemy [23] wywołujące różne objawy u różnych odmian tej rośliny.

Cząstki wirusa B chryzantemy są wydłużone i lekko wygięte. Ich typowa długość wynosi 685 nm, a grubość 12 nm. RNA stanowi 5–6% masy wirionu. Jest to pojedyncza cząsteczka ssRNA o długości 8,5 kb. Na końcu 5' jest czapeczka, a koniec 3' zawiera charakterystyczny łańcuch poliA. Duże białko replikacyjne powstaje przez bezpośrednią translację z ORF-1, a następnie proteaza hydrolizuje je na poszczególne białka enzymatyczne – polimerazę RNA, metylotransferazę i helikazę, a także proteazę podobną do papainy. Dalsze ORF ulegające translacji za pośrednictwem sgRNA kodują białka transportowe oraz białko kapsydu. Rozpoznano jeszcze sgRNA ulegające translacji do białka zawierającego strukturę tzw. palców cynkowych zdolnych do wiązania RNA [18].

U bardzo młodych roślin można zaobserwować ledwo widoczną mozaikę lub rozjaśnienie liści albo tylko nerwów. Objawy te szybko ustępują. Można powiedzieć, że praktycznie powszechnie uprawiane odmiany chryzantem porażane są przez CVB bezobjawowo [8, 25, 52]. Niektóre odmiany, takie jak te, u których opisywano mozaiki, rozetowości i inne, ostre objawy [10] są wycofywane z doboru.

W warunkach eksperymentu CVB można łatwo przenosić mechanicznie, ale w warunkach uprawy wirus tak się raczej nie przenosi. Przenoszą go mszyce na klujkach jako tzw. wirus nietrwały. Wektorami mogą być wszystkie gatunki mszyc żerujących na chryzantemach, ale do najefektywniejszych wektorów zaliczane są *Macrosiphum euphorbiae*, *Myzus persicae*, *Aulacorthum solani*, *Macrosiphoniella sanborni* i *Coloradoa rufomaculata* [25, 28]. Oczywiście, sadzonki pobrane z chorych roślin prawie zawsze zawierają wirus, który w ten sposób przenosi się na nowe uprawy i na kolejne sezony uprawy. Wirus B chryzantemy należy do wirusów o bardzo wąskim zakresie żywicieli. Praktycznie występuje tylko na chryzantemach, choć są doniesienia o znalezieniu CVB na astrze chińskim, suchołusce, starcu, nagietku, lwiej paszczy, petunii, szpinaku i bobie [28, 52]. Nie trzeba się jednak chyba obawiać, by rośliny te stały się źródłem infekcji dla chryzantem.

**Wirus brązowej plamistości pomidora (TSWV).** Wirus ten był okazjonalnie wykrywany na chryzantemach już bardzo dawno, bo w latach 30. XX wieku, ale od

końca lat 80. XX wieku notuje się jego masowe występowanie w uprawach chryzantem zarówno w Europie, jak i w obu Amerykach [6, 48, 49, 61, 62]. TSWV został także wykryty na chryzantemach w Polsce [35], a systematyczne badania wykazały, że występuje on dość powszechnie [4].

Tospowirusy, a wśród nich i wirus brązowej plamistości pomidora, są dość niezwykłymi wirusami. Ich szczególne cechy zostały niedawno szczegółowo opisane w Postępkach Nauk Rolniczych [40]. Tu ograniczymy się tylko do krótkiego opisu. Cząstki TSWV są kuliste, a ich średnica osiąga 80–120 nm. Kwas nukleinowy i bezpośrednio z nim związana okrywa białkowa stanowią tzw. nukleokapsyd otoczony dodatkową otoczką lipoproteinową pochodzącą z błon endoplazmatycznego retikulum komórek roślin, w których wirus namnaża się i dojrzewa. Genom TSWV składa się z trzech segmentów ssRNA o antysensownej orientacji, a więc niezdolnych do translacji, a tym samym do rozpoczęcia produkcji jakiegokolwiek białka, a więc i niezdolnych do replikacji [16, 32]. Replikacja RNA TSWV jest jednak możliwa dzięki temu, że nukleokapsyd wirusa zawiera białko replikazy RNA, który to enzym umożliwia transkrypcję antysensownego segmentu L RNA (najdłuższy z segmentów genomu) do RNA o odwrotnej, a więc o sensownej orientacji. Zapoczątkowuje to proces namnażania wirusa w komórkach roślin. Segment średniej długości (RNA M) i najkrótszy segment (RNA S) genomu są ambisensowne, to znaczy ich początkowe sekwencje mają orientację antysensowną i przed translacją muszą być przepisane (transkrypcja) do subgenomowych RNA o sensownej orientacji, natomiast dalsze sekwencje mają orientację sensowną i funkcjonują jako otwarte ramki odczytu. RNA L koduje białko replikazy. RNA M koduje białko transportowe oraz dwie glikoproteiny wchodzące w skład dodatkowej otoczki lipoproteinowej. RNA S koduje m.in. białko nukleokapsydu. Zainteresowanych szczegółami odsyłam do wcześniejszej publikacji [40].

Objawy porażenia TSWV u chryzantem występują na ogół u starszych roślin i na w pełni już dojrzałych liściach. Są to początkowo bladezielone plamy, które jednak bardzo szybko brunatnieją. Mogą występować także duże, współśrodkowe nekrotyczne pierścienie albo wzory liniowe układające się często we wzór liścia dębu. Silnie porażone liście zasychają i zamierają. Często objawy takie wykazują liście po jednej tylko stronie łodygi. Na łodygach chorych roślin pojawiają się brunatne, nekrotyczne smugi, często po jednej tylko stronie łodygi. Koszyczki kwiatowe są zdeformowane – rozwija się jedna tylko połowa kwiatostanu, a druga ulega nekrozie. Chore rośliny znacznie słabiej rosną, a często w ogóle zamierają [49].

TSWV może być w uprawach chryzantem przenoszony mechanicznie na rękach i narzędziach w czasie różnych zabiegów pielęgnacyjnych. Ten sposób rozprzestrzeniania wirusa odgrywa jednak znikomą rolę. Wirus jest natomiast bardzo efektywnie przenoszony przez kilka gatunków wciornastków (owady z rzędu *Thysanoptera*, rodziny *Thripidae*). Niegdyś najważniejszym wektorem był wciornastek tytoniowy (*Thrips tabaci*), natomiast choroba bardzo się wszędzie rozprzestrzeniła od

czasu, kiedy rolę najważniejszego, bardzo zresztą efektywnego wektora przejął wciornastek zachodni (*Frankliniella occidentalis*) [61]. Owad ten, występujący od dawna w Kalifornii, w ostatnim dwudziestolecu rozprzestrzenił się na znacznej części obu Ameryk i w Europie. TSWV pobierany jest wyłącznie przez larwy żerujące najczęściej w pąkach, a przenoszony jest przez dorosłą, uskrzydloną postać owada [63]. TSWV namnaża się w ciele wektora, a przede wszystkim w dwóch pierwszych stadiach larwalnych [60, 63]. Niektórzy badacze przypuszczają, że wirus ten był niegdyś patogenem owadów i później dopiero wyspecjalizował się w pasożytowaniu w komórkach roślin [40]. W każdym razie pewne jest, że jest to wirus przenoszony jako wirus krażeniowo-rozmnożeniowy.

TSWV jako patogen roślin jest klasycznym polifagiem. Lista jego żywicieli obejmuje około 900 gatunków roślin dwu- i jednoliściennych [56]. W cieplejszym klimacie TSWV występuje również na roślinach rosnących w polu, a nawet na różnych chwastach. W warunkach naszego klimatu przede wszystkim ze względu na wymagania wektora, TSWV powszechnie występuje tylko na roślinach uprawianych w szklarniach, a jego najważniejszymi, czy najczęstszymi gospodarzami są pomidor, papryka, sałata, chryzantema, gerbera i diffenbachia. Rośliny te mogą być dla siebie wzajemnie źródłami infekcji.

**Wiroid karłowatości chryzantemy (CSVd).** Karłowatość chryzantemy została opisana jako choroba wirusowa przez Dimocka [15], a dopiero później rozpoznano, że jest ona powodowana przez wiroid karłowatości chryzantemy [14, 29]. W Polsce znana jest od dawna, choć brak jest dobrze udokumentowanej literatury naukowej na ten temat. Wiroid był jednak stwierdzany przez polskie służby kwarantannowe (obecnie Państwowa Inspekcja Ochrony Roślin i Nasiennictwa) w kilku dużych firmach prowadzących produkcję sadzonek chryzantem. W Europie choroba ta była zawsze oficjalnie uznawana za występującą sporadycznie i sprowadzaną wyłącznie w importowanych z USA sadzonkach [26, 59].

Według pierwszych oznaczeń RNA wiroida karłowatości chryzantemy miał liczyć 356 nukleotydów [21], a obecnie podaje się [20] liczbę 354–356. W komórkach chorych roślin CSVd występuje głównie w typowej formie kolistego RNA tworzącego wtórnie, dzięki sparowaniu dużej liczby nukleotydów, typową strukturę spinki do włosów.

RNA CSVd replikuje się w komórkach roślin zgodnie z tzw. mechanizmem toczącego się koła [19]. Kolistą formą RNA wiroida powiela się wielokrotnie. Powstała w ten sposób oligomeryczna minusowa nić RNA służy, z kolei, jako matryca do transkrypcji (–)ssRNA (+)ssRNA. Powstała w tym procesie oligomeryczna forma plusowego RNA jest cięta przez odpowiednią nukleazę na monomeryczne odcinki odpowiadające wyjściowej postaci RNA wiroida. Wreszcie, przy udziale odpowiedniej ligazy katalizującej powstawanie wiązań fosfodiesterowych końce powstałych nici RNA wiroida wiążą się ze sobą kowalencyjnie tworząc typową strukturę kolistą. Ten proces namnażania zwany szlakiem asymetrycznym jest charakterystyczny dla wiroidów zaliczanych do rodziny *Pospiviroidae* namnażających się na terenie

jąder komórkowych [19]. Enzymy funkcjonujące w tym procesie są enzymami rośliny żywicielskiej. CSVd, jak i wszystkie inne wiroidy, nie koduje żadnego własnego białka i nie może, wobec tego, zakłócać funkcjonowania układu translacyjnego komórek roślinnych. Wiroidy uznane zostały za patogeny układu transkrypcyjnego. Konkretnie uważa się, że wiroidy mogą funkcjonować w komórkach roślin jako fałszywe czynniki sygnałowe wywołujące niekorzystne zmiany metaboliczne [12, 53]. Ostatnio jednak dominuje hipoteza, że wiroidy wykorzystują funkcjonujący w komórkach mechanizm potraskrypcyjnego wyciszania genów (PTGS) [19, 47]. Pozornie dwuniciowe natywne formy wiroidów mogą indukować w komórkach reakcję PTGS, której celem stają się informacyjne RNA (mRNA) komórkowe. W ten sposób informacja zawarta w genomie komórki nie jest przekazywana do miejsc jej ekspresji. Jest to bardzo elegancka hipoteza wyjaśniająca mechanizm patogeniczności wiroidów jako patogenów transkrypcyjnego układu komórek roślinnych.

We wszystkich cytowanych tu opisach wiroidów, czy wiroida karłowatości chryzantemy w szczególności podkreśla się, że CSVd jest patogenem bardzo infekcyjnym i bardzo łatwo przenoszonym się mechanicznie. W uprawach chryzantem jest on więc przenoszony na rękach i narzędziach w czasie różnych zabiegów pielęgnacyjnych [8, 26, 59]. Nie ma żadnych doniesień o przenoszeniu tego wiroida przez wektory, choć – w świetle tego, co wiadomo o innym wiroidzie (*Potato spindle tuber viroid*) zaliczanym do tego samego rodzaju – przenoszenie CSVd przez mszyce byłoby możliwe, gdyby kwas nukleinowy CSVd korzystał z kapsydu wirusa obecnego z nim razem w komórkach chorych chryzantem, a przenoszonego przez mszyce, np. TAV czy CVB. Pospolicie natomiast wiroid ten rozprzestrzenia się z sadzonkami pobranymi z chorych roślin.

Najważniejszym objawem jest silne zahamowanie wzrostu roślin. Rośliny chore mogą być o 50% niższe niż zdrowe. Drobnieją także liście i kwiatostany. Zieleń liści może być trochę jaśniejsza. Liście bywają sztywno osadzone na łodydze, a brzegi blaszek mogą być lekko podwinięte ku górze. Chore rośliny czasem w ogóle nie kwitną, a jeśli kwitną, to kwitnienie jest przyspieszone o 10–14 dni. Barwa kwiatów odmian ciemnych (czerwone, rdzawe, brązowe) może być nieco rozjaśniona. Wiroid ten charakteryzuje się długim okresem inkubacji i objawy mogą wystąpić dopiero w 6–8 miesięcy po infekcji [8, 15, 26, 59].

W piśmiennictwie światowym nie ma doniesień o znalezieniu CSVd na roślinach innych niż chryzantemy. W warunkach doświadczenia wiroidem tym łatwo jednak można zakazić kilka innych gatunków roślin z rodziny *Asteraceae* (= *Compositae*), na przykład cynerarię i *Gynura aurantiaca*, oraz kilka roślin z rodziny *Solanaceae*, na przykład pomidor i ziemniak [42, 51]. Wiroid wrzecionowatości bulw ziemniaka, a być może i inne gatunki wiroidów z rodzaju *Pospiviroid*, a nawet z innych rodzajów z rodziny *Pospiviroidae* mogą zakażać chryzantemy wywołując u nich takie same objawy jak CSVd. Nie można wykluczyć możliwości takich zakażeń w warunkach uprawy roślin.

Wiroid chlorotycznej pstrości chryzantemy (CChMVd). Chlorotyczna pstrość została opisana jako choroba wirusowa [16, 17, 41]. Dopiero Romaine i Horst [57]

przedstawili dane świadczące o tym, że wywołujący ją czynnik chorobotwórczy jest wiroidem. Ostateczny dowód na to uzyskali Navarro i Flores [50] izolując CChMVd z chorych roślin i poznając jego budowę.

Ci ostatni autorzy użyli w tytule swojej publikacji określenia „nietypowy wiroid”. Dziś wiemy, że struktura „głowy młotka” jest charakterystyczną i typową strukturą dla wiroidów z rodziny *Avsunviroidae*, a przynajmniej z rodzaju *Pelamoviroid* [19, 20]. CChMVd jest najdłuższym spośród znanych wiroidów. Jego RNA liczy 399 nukleotydów. Kwas nukleinowy wiroida replikuje się w komórce zgodnie z mechanizmem toczącego się koła, tyle że tym razem po tzw. ścieżce symetrycznej. Znaczy to, że obie formy polarność RNA produkują oligomeryczne, długie nici RNA ulegające potem autokatalitycznemu cięciu do monomerycznych fragmentów, będących RNA CChMVd. Autokatalityczny mechanizm cięcia jest możliwy właśnie dzięki tej, typowej dla rybozymów, strukturze głowy młotka [19].

Charakterystyczne objawy chlorotycznej pstrości występują wyłącznie na niektórych odmianach chryzantem [17]. Są to jasnozielone lub żółte plamy i sektory na liściach o dość wyraźnie zarysowanych konturach. Na liściach dolnych piętér odbarwione powierzchnie są niewielkie natomiast im wyżej położony liść (im młodszy) tym obszary żółte są coraz większe. Górne liście są prawie całkowicie żółte. Chore rośliny słabiej rosną.

CChMVd rozprzestrzenia się zapewne wyłącznie z sadzonkami pobranymi z chorych roślin. Nie ma doniesień o jakimkolwiek wektorze CChMVd. Wiroid można przenieść mechanicznie przy specjalnych staraniach [41], natomiast nie zachorowała żadna z 500 roślin wyrosłych z sadzonek pobieranych rękami celowo zanieczyszczonymi sokiem z chorych roślin (doświadczenie własne, niepublikowane), co dowodzi, że w uprawach chryzantem wiroid w ten sposób się nie przenosi. Chryzantema jest jedynym znanym żywicielem CChMVd.

## **Występowanie i szkodliwość chorób chryzantem powodowanych przez wirusy i wiroidy**

Niektóre wirusy powodują tak silne objawy, że albo rośliny same zamierają albo trzeba i tak wyeliminować je z uprawy. W takich przypadkach nawet przy niewielkiej liczbie porażonych roślin szkody są, a przynajmniej mogą być, duże. Takim wirusem jest TSWV, a może nim być także TAV. Teoretycznie do tej grupy należałoby zaliczyć CSVd, ale z przyczyn, o których będzie mowa później, nie byłoby to chyba właściwe. Inne wirusy wywołują bardzo słabo widoczne objawy, ale ich szkodliwość może wynikać z masowego występowania. Takim wirusem jest CVB.

W tabeli 2 przedstawiono dane o występowaniu CVB, TAV i TSWV w polskich szklarniach. Dane te to sumarycznie zebrane wyniki prezentowane w kilku publikacjach [3, 4, 5, 38, 44]. Dane z każdego roku pochodzą na ogół z kilku szklarni i zawsze z kilkuset przebadanych roślin.

**Tabela 2.** Występowania trzech wirusów na chryzantemach w Polsce w różnych latach badań

| Lata badań | Procent badanych roślin porażonych przez:: |      |       |
|------------|--|------|-------|
|            | CVB  | TAV  | TSWV  |
| 1973       | 100  | 30   | n.b.* |
| 1977       | 92   | 75   | n.b.  |
| 1979       | 96   | 90   | n.b.  |
| 1984       | 80   | 32   | n.b.  |
| 1994       | 33–43                                      | 5–11 | 0     |
| 1997       | 16–65                                      | 3–17 | 12    |
| 1999       | 15–24                                      | 0–6  | 0–94  |
| 2000       | 8–41                                       | 0–6  | 4–88  |

\* n.b. – nie badano.

Trudno jest znaleźć porównywalne dane obrazujące występowanie tych wirusów w innych krajach, jednak fragmentaryczne informacje na ten temat [44] potwierdzają częstsze występowanie CVB niż TAV w Europie i Australii. O występowaniu wiroidów brak jest w ogóle aktualnych danych. W Europie uważa się, że zarówno CSVd jak i CChMVd to wiroidy endemiczne dla terenu Ameryki Północnej i do Europy trafiają sporadycznie w importowanym materiale roślinnym. Informacje o pojawieniu się wiroidów nie są z reguły nagłaśniane. TSWV zaczął być problemem zarówno w Polsce, jak i w Europie dopiero w latach 90. XX wieku.

Kwestię szkodliwości poszczególnych wirusów i wiroidów w stosunku do chorych roślin trudno jest przedstawić jednoznacznie. Wydawałoby się, że najbardziej wiarygodne informacje na ten temat pochodzą ze ścisłych doświadczeń, w których zdrowe wcześniej rośliny zostały zakażone CVB, TAV, CSVd i CChMVd, a na końcu ich wegetacji zebrano ścisłe dane o wpływie tych zakażeń na wzrost i rozwój roślin [32]. Wyniki tej pracy podsumowano w tabeli 3. Najgroźniejszym patogenem okazał się wiroid karłowatości chryzantemy, który w największym stopniu obniżył świeżą masę roślin, długość pędów i średnicę koszyczków kwiatowych. TAV w podobnym stopniu obniżył wielkość koszyczków kwiatowych. Najmniej szkodliwy okazał się CChMVd. CSVd i CVB znacznie obniżyły tempo ukorzenia sadzonek, czego w tabeli 3 nie pokazano, ale wyniki te przedstawiono w cytowanej pracy [32].

**Tabela 3.** Szkodliwość dwóch wirusów i dwóch wiroidów chryzantem [32]

| Wirus/wiroid | Obniżka [%] |                |                  |
|--------------|-------------|----------------|------------------|
|              | masy roślin | długości pędów | średnicy kwiatów |
| TAV          | 18          | 11             | 10               |
| CVB          | 17          | 10             | 4                |
| CSVd         | 29          | 15             | 9                |
| CChMVd       | 10          | 5              | 1                |

Dane przedstawione w tabeli 3 pochodzą z doświadczenia, do którego wytypowano kilkanaście najpowszechniej w tamtych czasach uprawianych w USA standardowych, wielokwiatowych odmian chryzantem. W doświadczeniu tym nie uwzględ-

niono wirusa brązowej plamistości pomidora, który w tamtych czasach nie uchodził jeszcze za groźnego patogena chryzantem. Szkodliwość tego wirusa w stosunku do różnych typów odmian chryzantem analizowali Matteoni i Allen [49] w Kanadzie. Ich wyniki podsumowano w tabeli 4.

**Tabela 4.** Szkodliwość TSWV dla różnych odmian chryzantem [49]

| Typ odmiany           | Zmniejszenie [%] |                |                           |
|-----------------------|------------------|----------------|---------------------------|
|                       | masy kwiatu      | liczby płatków | liczby kwiatów na łodydze |
| gałązkowe półpełne    | 15               | 3              | 25                        |
| gałązkowe dekoracyjne | 34               | 12             | 23                        |
| wielkokwiatowe        | 51               | 8              | –                         |

Dane przedstawione w tabelach 3 i 4 wydają się obiektywne i miarodajne. Trzeba jednak pamiętać, że do doświadczeń tych użyto określonych izolatów wirusów i wiroidów, a wiadomo na przykład, że różne izolaty CVB wywołują bardzo zróżnicowane objawy [23], a w populacji CChMVd zidentyfikowano nawet szczep latentny nie wywołujący żadnych widocznych objawów u odmian, które reagowały wyraźnymi objawami na infekcje innymi izolatami wiroida [30]. Zróżnicowana jest także reakcja poszczególnych odmian chryzantem na ten sam wirus, co dobrze wykazano dla CVB [10], TSWV [1] i CChMVd [17]. Odmiany szczególnie silnie reagujące na pospolicie występujące wirusy są eliminowane z uprawy, choć czasem są to odmiany o wybitnej wartości dekoracyjnej. Jest to też jeden z aspektów szkodliwości wirusów i wiroidów w stosunku do chryzantem.

## Ochrona chryzantem przed wirusami i wiroidami

Najważniejszą zasadą jest rozpoczynanie uprawy od zdrowego materiału wyjściowego, to znaczy od zdrowych sadzonek. Organizacja produkcji takich sadzonek została już dawno starannie opracowana [9]. Materiał elitarny, to znaczy rośliny mateczne, absolutnie wolne od wszystkich znanych wirusów i wiroidów są okresowo testowane na obecność wirusów i wiroidów wszelkimi dostępnymi metodami (zob. dalej), rosną w szklarni doskonale zabezpieczonej przed owadami, są bardzo luźno rozstawione i obsługiwane przez personel, który nie kontaktuje się w ogóle z innymi roślinami. Przestrzega się tu zasad czystości porównywalnych z salą operacyjną w szpitalu. Praktyczne szczegóły znaleźć można w tekście pisanym dla producentów chryzantem [37]. Z sadzonek uzyskanych z tych roślin uzyskuje się rośliny elitarne, to znaczy rośliny, z których, z kolei, pobierane są sadzonki przeznaczone już do celów produkcyjnych. Rośliny elitarne rosną też w warunkach zabezpieczających je przed reinfekcją, choć rygory nie są tu już tak ostre. Rośliny te wymienia się na nowe po 2–3 pobraniach sadzonek. Warto tu wrócić na chwilę do zagadnienia szkodliwości wirusów i wiroidów chryzantem. O ile w uprawach na kwiat można tolerować obecność



chorych roślin, bo późne zakażenia nie są już dla nich rzeczywiście niebezpieczne, o tyle w uprawach matecznych i w produkcji sadzonek rośliny chore muszą być bezwzględnie i natychmiast usuwane. Każda infekcja powoduje tu więc utratę rośliny. Dzięki ścisłemu przestrzeganiu tych zasad producenci uprawiający chryzantemy na kwiaty cięte lub doniczkowy materiał ozdobny mogą rozpoczynać produkcję od zdrowego materiału wyjściowego.

Zdrowe rośliny mateczne (superelitarne) można czasem uzyskać dzięki hodowli wierzchołków wzrostu roślin na specjalnych pożywkach. Bardzo małe wierzchołki wzrostu roślin (0,1–0,2 mm; są to na ogół kopuły merystematyczne wraz z pierwszymi zawiązkami liści) wycina się w warunkach sterylnych i umieszcza na pożywce. Po 6–7 tygodniach uzyskane roślinki można przenieść do doniczek wypełnionych odpowiednim substratem. Wykorzystuje się tu niezdolność wirusów do zasiedlania merystemów. Szczegóły techniczne i podstawową literaturę tematu znaleźć można we wcześniej opublikowanych pracach [2, 37]. Wiadomo, że metodą tą łatwo uzyskuje się (50–80%) rośliny wolne od CVB i TAV [27, 28]. Mniej skuteczne, ale możliwe jest uwalnianie w ten sposób roślin od TSWV [2]. Warto tu zaznaczyć, że spośród 5 przedsiębiorstw produkujących sadzonki chryzantem i objętych trzyletnimi badaniami zdrowotności materiału najmniej roślin chorych znaleziono w firmie, która część materiału uzyskiwała z kultur *in vitro* [3]. Skuteczność metody uzyskiwania wolnych od wirusów roślin, również chryzantem, można poprawić poddając tzw. termoterapii (3–6 tyg. wzrostu w temperaturze 38–42°C) rośliny przed wycięciem wierzchołków wzrostu. Zabiegi te są bezskuteczne wobec wiroidów, które po pierwsze łatwiej niż wirusy zasiedlają merystemy, a po drugie są patogenami termofilnymi i nie poddają się termotrapii. Z chorych roślin chryzantem udało się jednak uzyskać rośliny wolne od CSVd i CChMVd dzięki przedłużonej (5–6 miesięcy) termoterapii w niskiej (około 5°C) temperaturze. Z wyciętych po tym zabiegu wierzchołków wzrostu uzyskano 20–80% roślin wolnych od wiroidów [54, 55].

W uprawach chryzantem na kwiaty cięte lub doniczkowy materiał ozdobny należy chronić rośliny przed szkodnikami, które mogą być wektorami wirusów. Stosunkowo łatwo jest zapewnić ochronę przed mszycami stosując zalecane w tym celu insektycydy. Zwalczanie wciornastka zachodniego jest trudniejsze. Szkodnik ten uodpornił się na wiele spośród powszechnie stosowanych środków owadobójczych, a ponadto jego larwy często kryją się w pąkach roślin, gdzie są trudniej dostępne dla stosowanych insektycydów [61].

Do omówienia pozostaje jeszcze kwestia testowania roślin chryzantem na obecność wirusów i wiroidów, co jest czynnością niezbędną jeśli chcemy prowadzić uprawę materiału matecznego wolnego od tych patogenów. Lustracja upraw i usuwanie roślin z widocznymi objawami porażenia nie wystarczy. Reakcja różnych odmian bywa tak słaba, że objawy są praktycznie niewidoczne. Rośliny mogą też być porażone bardzo słabo patogenicznymi albo wręcz latentnymi szczepami wirusów, czy wiroidów, o czym była już mowa wcześniej. Wreszcie, rośliny porażone często

wcześniej zaczynają być źródłem infekcji dla roślin sąsiednich niż daje się to zauważyć dzięki objawom, które wreszcie się ukażą. Najkrócej mówiąc, rośliny mogą być bezobjawowymi nosicielami wirusów, czy wiroidów stanowiąc w ten sposób źródło infekcji, nie mówiąc już o tym, że sadzonki mogą być pobierane wyłącznie ze zdrowych, sprawdzonych roślin [9, 26, 37].

Metody testowania (sprawdzania zdrowotności) chryzantem na obecność wirusów są takie same, jak w przypadku innych roślin. Najstarszą metodą jest test biologiczny, który polega na stosowaniu tzw. roślin wskaźnikowych do wykrywania wirusów, czy wiroidów. Roślina wskaźnikowa to gatunek, który niezawodnie reaguje na obecność wykrywanego wirusa, czy wiroida objawami. Roślinę taką trzeba zainokulować sokiem uzyskanym z rośliny badanej lub przez szczepienie zrazu rośliny wskaźnikowej na roślinie badanej. Jeśli roślina badana jest porażona wirusem, roślina wskaźnikowa zareaguje na to charakterystycznymi, opisanymi w literaturze objawami. Roślinami wskaźnikowymi dla CVB mogą być siewki *Petunia hybrida* [28] lub silnie reagująca na ten wirus odmiana chryzantem 'Fanfare' [23, 45]. Dobrą rośliną wskaźnikową dla TAV [27], podobnie jak i dla TSWV [58], jest *Petunia hybrida*. Dla obu wiroidów jako roślin wskaźnikowych używa się specyficznie i niezawodnie reagujących odmian chryzantem – dla CSVd 'Mistletoe' i 'Bonnie Jean' [42, 51], a dla CChMvd – 'Deep Ridge' lub 'Blue Ridge' [17, 42]. Dobrą rośliną wskaźnikową dla CSVd jest także pomidor odm 'Rutgers' [42, 51]. Test biologiczny jest niezawodny i wysoce czuły, to znaczy wykrywa najmniejsze nawet ilości wirusa, czy wiroida obecnego w roślinie badanej. Jego wadą jest to, że dość długo trzeba czekać na wynik. Siewki petunii reagują objawami już wprawdzie po 7–10 dniach od inokulacji, ale na objawy CVB na 'Fanfare' trzeba czekać minimum 2–3 tygodnie [45], a na reakcję odmian wskaźnikowych na wiroidy – minimum 3–4 tygodnie [42, 51].

Serologiczny test ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) można wykonać, uzyskując wiarygodny wynik, w ciągu 2 dni. Nadaje się on doskonale do wykrywania zarówno CVB i TAV [3, 44], jak i TSWV [4, 5]. Próbkę zebraną z roślin mogą być zbadane natychmiast, albo, jeśli nie jest to możliwe, po przechowaniu w stanie zamrożenia. Testy serologiczne, niestety, nie mogą być stosowane do wykrywania wiroidów, ponieważ wiroidy nie mają okrywy białkowej i wobec tego, nie można uzyskać surowicy na nie uczulonej. Wiroidy to czyste kwasy nukleinowe i, wobec tego, jedyną metodą ich wykrywania w roślinach (poza testem biologicznym) jest wykrywanie tych właśnie specyficznych kwasów nukleinowych.

Biochemicy i biolodzy molekularni, a także genetycy opracowali wiele procedur izolowania i oczyszczania kwasów nukleinowych. Tu jednak potrzebna jest procedura w miarę prosta, szybka i niedroga. W zasadzie funkcjonują dwa rodzaje metod. RNA wiroidów może być wykrywany metodą elektroforezy na żelach poliakryloamidowych (PAGE) albo metodą hybrydyzacji z sondą molekularną (cDNA). Metody te, a także historia ich doskonalenia zostały wcześniej opisane [37, 43]. Nie chcąc powtarzać informacji tutaj nie najważniejszych i nie chcąc niepotrzebnie powiększać liczby cytowanych pozycji literatury poprzestane tu na rzeczach najważniejszych dla tematu.

Praktycznie przydatną procedurę izolowania RNA wiroida z tkanki roślinnej i wstępnego oddzielania go od różnych składników rośliny (m.in. kwasów nukleinowych) opracowali i opisali w 1975 roku Morris i Wright. Dwa lata później procedura ta została już z detalami opisana przez Schumanna i współaut., przy czym tym razem zastosowano bardziej praktyczny żel płytkowy zamiast rurkowego. Pracując z wiroidem karłowatości chryzantemy procedurę tę uprościł i udoskonalił Čech [13]. Zmienił on nieco bufor ekstrakcyjny, połączył etapy izolowania RNA CSVd z tkanki i jego strącania chlorkiem litu, a także stwierdził, że można pominąć całonocną dializę. Do ostatecznego wytrącania RNA CSVd z zawiesiny użył glikolu polietylenowego (PEG) zamiast etanolu. Umożliwiło to później zmodyfikowanie tej procedury przez Skrzeczковского, który wprowadził dwuetapowe wytrącanie kwasów nukleinowych PEG. W pierwszym etapie wytrąca się RNA nieco większe od RNA wiroida, a dopiero w drugim RNA wiroida, dzięki czemu preparat jest bardziej czysty. Tak uzyskany, skoncentrowany RNA wiroida poddaje się elektroforezie, której warunki zapewniają rozdzielenie kwasów nukleinowych o różnej ruchliwości elektroforetycznej. Prążek RNA wiroida barwi się albo błękitem toluidyny albo bromkiem etydyny. Bromek etydyny jest substancją toksyczną, a obserwacja wymaga użycia specjalnej lampy UV, ale prążki RNA wiroida są znacznie lepiej widoczne niż po barwieniu błękitem toluidyny. Później Schumacher wprowadził technikę tzw. elektroforezy powrotnej. Pierwszy przebieg elektroforezy prowadzony jest w normalnych warunkach. Zasilanie odłącza się, kiedy RNA wiroida znajduje się mniej więcej 1 cm od dna żelu (widać to dzięki znacznikowi, jakim jest ksylen cyanol). Wszystko, co migruje szybciej niż RNA wiroida zdąży w tym czasie opuścić żel i dostaje się do dolnego zbiornika z buforem. Zmienia się wtedy bufor w obu zbiornikach aparatu do elektroforezy na świeży, zamienia się bieguny pola elektrycznego i prowadzi elektroforezę w przeciwnym kierunku zapewniając warunki denaturacji RNA wiroida (np. podwyższona temperatura). Opóźnia to migrację RNA wiroidowego i różne zanieczyszczenia, które wędrowały w czasie pierwszego przebiegu za linią RNA wiroidowego (wolniej) teraz znajdują się przed tą linią, migrują szybciej niż zdenaturowany RNA wiroida i, wobec tego, opuszczają żel wydostając się do górnego zbiornika. Dzięki temu żel jest w maksymalnym stopniu wolny od zanieczyszczeń i można go barwić srebrem, co najlepiej uwidacznia prążek RNA wiroida. Wiadomo mi, że tę właśnie procedurę stosują z powodzeniem niektóre przynajmniej placówki Państwowej Inspekcji Ochrony Roślin i Nasiennictwa do wykrywania CSVd.

Sonda molekularna to komplementarna do RNA wiroida sekwencja DNA (cDNA) lub RNA (cRNA) uzyskana w odpowiednim pozakomórkowym układzie enzymatycznym. Jeden z nukleotydów użyty jako substrat do syntezy sondy jest znakowany albo izotopowo (najczęściej  $^{32}\text{P}$ ) albo digoksygeniną. Próbkę RNA izolowanego z badanych roślin nanosi się na odpowiednie podłoże (np. błonę nylonową) i tam unieruchamia (dot-blot). Następnie błonę tę poddaje się kąpieli w odpowiednim buforze zawierającym sondę. Komplementarna do RNA wiroidowego sonda hybry-

dyzuje z próbkami z tych roślin, w których obecny jest wiroidowy RNA. Obraz wywołuje się albo autoradiograficznie (jeśli sonda znakowana jest izotopowo), albo w reakcji chemiluminescencji (jeśli sonda znakowana jest digoksygeniną).

Metoda hybrydyzacji z sondą molekularną uważana jest za bardziej czułą niż metoda PAGE. Wykrywalność RNA wiroida można wydatnie zwiększyć przez powielenie jego sekwencji, a ściśle mówiąc sekwencji odwrotnego DNA uzyskanego w procesie odwrotnej transkrypcji (RT), w łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR). Uzyskaną w reakcji RT-PCR wielokrotnie zwiększoną ilość kwasu nukleinowego można wykryć albo metodą PAGE albo metodą hybrydyzacji z sondą molekularną. Techniki te stosowano do wykrywania CSVd i CChMVd [22, 46].

Informacje o możliwych metodach wykrywania wirusów i wiroidów chryzantemy podsumowano w tabeli 5.

**Tabela 5.** Sprawdzone metody wykrywania wirusów i wiroidów chryzantemy

| Wirus/wiroid | Roślina wskaźnikowa                | ELISA | PAGE | cDNA | RT-PCR* |
|--------------|------------------------------------|-------|------|------|---------|
| TAV          | <i>Petunia hybrida</i>             | +     | –    | –    | –       |
| CVB          | odm.** 'Fanfare'                   | +     | –    | –    | –       |
| TSWV         | <i>Petunia hybrida</i>             | +     | –    | –    | –       |
| CSVd         | odm.** 'Mistletoe' i 'Bonnie Jean' | –     | +    | +    | +       |
| CChMVd       | odm.** 'Deep Ridge'                | –     | –    | +    | +       |

\* RT-PCR nie jest metodą wykrywania wiroidów; służy jedynie do wstępnego zwiększenia ilości wykrywanego RNA, które potem łatwiej jest wykryć metodą PAGE lub cDNA.

\*\* Chodzi tu o odmiany chryzantem.

Z danych przedstawionych w tabeli 2 wynika, że porażenie chryzantem w Polsce przez wirusy jest obecnie znacznie mniejsze niż było w latach 70. i 80. XX wieku. Wynikać to może albo z ogólnego postępu technologicznego, albo z tego, że polscy producenci sadzonek w większym stopniu korzystają obecnie z materiału wyjściowego pochodzącego z importu (głównie z Anglii, Belgii, Francji i Holandii). Zwracaliśmy jednak już uwagę na to, że importowane jako materiał wolny od wirusów sadzonki chryzantem prawdopodobnie nie są produkowane we właściwy sposób, to znaczy pochodzą z materiału, którego zdrowotność oceniana jest jedynie wizualnie, a nie przy użyciu właściwych metod testowania. Wskazuje na to znacznie większa liczba roślin porażonych CVB niż TAV [38, 44]. Oczywiście, można by w Polsce uruchomić firmę produkującą sadzonki na potrzeby krajowe z zachowaniem poprawnych procedur testowania roślin. Nie możemy jednak zrezygnować z importu materiału ze względu na atrakcyjność nowych, uzyskiwanych w różnych krajach odmian chryzantem. Polska produkcja byłaby też zapewne droższa, bo wiele firm zachodnioeuropejskich przenieśli swoją produkcję do rejonów cieplejszych (Brazylia, kraje południowego wybrzeża Basenu Morza Śródziemnego), co obniża koszty dzięki temu, że nie trzeba ogrzewać szklarni, a czasem też korzysta się z tańszej siły roboczej. W Polsce musimy jednak kontrolować zdrowotność importowanego ma-

teriału znacznie staranniej niż robi się to dotychczas. Jak wykazano w tym tekście, testem ELISA jesteśmy w stanie wykrywać trzy najgroźniejsze wirusy – TSWV, TAV i CVB. Tego ostatniego wirusa nie wolno lekceważyć. Wykazano [32], że mimo braku wyraźnych objawów chorobowych, wpływa on ujemnie na wzrost roślin, liczbę uzyskiwanych sadzonek i tempo ich ukorzenia. Z drugiej strony, aktualnie, wirus ten jest bardzo powszechny.

Inaczej trzeba podejść do kwestii wiroidów. CChMVd nie jest zapewne w ogóle żadnym problemem. Kłopotliwe może okazać się testowanie roślin na obecność CSVd. Zastanawiające jest, że w kilku szklarniach, w których prowadziliśmy badania i nie stwierdzaliśmy widocznych oznak porażenia roślin CSVd kontrole Państwowej Inspekcji Ochrony Roślin i Nasiennictwa wykazywały obecność wiroida w niektórych roślinach. Jedną z przyczyn tego stanu rzeczy może być przewaga słabo patogenicznych szczepów wiroida. Trzeba tu przypomnieć, że udowodniono istnienie latentnych szczepów [30], a dobrze znane są też słabe lub bardzo słabe szczepy wiroida wrzecionowatości bulw ziemniaka [42, 51]. Drugą przyczyną może być zmiana składu odmianowego chryzantem i wyeliminowanie z uprawy odmian wyraźnie reagujących objawami na CSVd. Trzecią przyczyną może być znany długi okres inkubacji tego wiroida. Molekularne metody wykrywania CSVd są zbyt skomplikowane i zbyt drogie do stosowania w testach masowych. Testy biologiczne też nie są tanie. Nie wymagają wprawdzie drogiej aparatury i odczynników, ale zajmują znaczną powierzchnię szklarni i są dość pracochłonne. Wydaje się, że potrzebne są szczegółowe badania, które pokazałyby, jakie jest rzeczywiście zagrożenie tym wiroidem.

## Literatura

- [1] Allen W.R., Matteoni J.A., Broadbent A.B. 1990. Susceptibility of cultivars of florists' chrysanthemum to tomato spotted wilt virus. *Canad. J. Plant Path.* 12: 417–423.
- [2] Balukiewicz A., Kryczyński S. 2001. Attempts to eliminate *Tomato spotted wilt virus* from chrysanthemum plants by meristem-tip culture. *Phytopathol. Pol.* 21: 101–108.
- [3] Balukiewicz A., Kryczyński S. 2001. Viruses in chrysanthemum mother stock plants in Poland. *Phytopathol. Pol.* 22: 107–115.
- [4] Balukiewicz A., Kryczyński S. 2005. Tosspovirus in chrysanthemum mother stock plants in Poland. *Phytopathol. Pol.* 37: 59–67.
- [5] Balukiewicz A., Kryczyński S., Stawiszyńska A. 1999. Detection of *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) in chrysanthemum plants using ELISA test. *Phytopathol. Pol.* 18: 17–26.
- [6] Bellardi M.G., Vicchi V. 1990. TSWV nuova insida par la produzione agricola italiana. *Informatore Fitopatologico* 3: 17–24
- [7] Borecki Z. (red.) 1996. Polskie nazwy chorób roślin uprawnych. Polskie Towarzystwo Fitopatologiczne, Poznań.
- [8] Brierley P. 1953. Virus diseases of chrysanthemum. 1953 Yearbook of Agriculture: 596–601.
- [9] Brierley P., Olson C.J. 1956. Development and production of virus free chrysanthemum propagative material. *Plant Dis. Repr.* Suppl. 238: 63–67.
- [10] Brierley P., Smith F.F. 1958. Some characteristics of eight mosaic and two rosette viruses in chrysanthemum. *Plant Dis. Repr.* 42: 752–763.

- [11] Brierley P., Smith F.F., Doolittle S.P. 1955. Some hosts and vectors of tomato aspermy virus. *Plant Dis. Repr.* 39: 152–156.
- [12] Conejero V., Belles J.M., Garcia-Breijo F., Garro R., Hernández-Yago J., Rodrigo I., Vera P. 1990. Signalling in viroid pathogenesis. Recognition and response in plant-virus interactions. W R.S.S. Fraser (red.), Springer Verlag, Berlin: 233–261.
- [13] Čech M., 1983. Viroids in Czechoslovakia. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 291: 83–88.
- [14] Diener T.O., Lawson R.H. 1973. Chrysanthemum stunt: a viroid disease. *Virology* 51: 94–101.
- [15] Dimock A.W. 1947. Chrysanthemum stunt. *NY State Flower Growers Bull.* 26(2): 2 ss.
- [16] Dimock A.W., Geissinger C.M. 1969. Chlorotic mottle: a disease of florists' chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium*) caused by a graft-transmissible agent. *Phytopath.* 60: 1024.
- [17] Dimock A.W., Geissinger C.M., Horst R.K. 1971. Chlorotic mottle: a newly recognized disease of chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium*). *Phytopath.* 61: 415–419.
- [18] Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J., Desselberger U., Ball L.A. (red.) 2005. Virus taxonomy. Eight Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier, Academic Press, San Diego.
- [19] Flores R., Daròs J.A., Navarro J.A., 2003: Replication. W: Viroids. A. Hadidi i in. (red.), CSIRO Publishing, Collingwood: 55–60.
- [20] Flores R., Randles J.W., Bar-Joseph M., Diener T.O. 2005. Subviral agents: Viroids. W: Virus taxonomy. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. C.M. Fauquet i in. (red.), Elsevier, Academic Press, San Diego: 1147–1161.
- [21] Gross H.J., Krupp G., Domdey H., Raba M., Jank P., Lossow C., Alberty H., Ramm K. Sängler H.L. 1982. Nucleotide sequence and secondary structure of citrus exocortis and chrysanthemum stunt viroid. *Europ. J. Biochem.* 121: 249–257.
- [22] Hadidi A., Candresse T. 2003: Polymerase chain reaction. W: A. Hadidi i in. (red.) Viroids. CSIRO Publishing, Collingwood: 115–122.
- [23] Hakkaert F.A., Maat D.Z. 1974. Variation of chrysanthemum virus B. *Neth. J. Plant Path.* 80: 97–103.
- [24] Hollings M. 1955. Investigation on chrysanthemum viruses. I. Aspermy flower distortion. *Ann. Appl. Biol.* 43: 86–102.
- [25] Hollings M. 1957. Investigation on chrysanthemum viruses. II. Virus B (mild mosaic) and chrysanthemum latent virus. *Ann. Appl. Biol.* 45: 589–602.
- [26] Hollings M. 1968. Virus diseases of chrysanthemum. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food Advisory Leaflet: 555.
- [27] Hollings M., Stone O.M. 1971. Tomato aspermy virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses. No 79.
- [28] Hollings M., Stone O.M. 1972. Chrysanthemum virus B. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses. No 110.
- [29] Hollings M., Stone O.M. 1973. Some properties of chrysanthemum stunt, a virus with the characteristics of an uncoated ribonucleic acid. *Ann. Appl. Biol.* 74: 333–348.
- [30] Horst R.K. 1975. Detection of a latent infectious agent that protects against infection by chrysanthemum chlorotic mottle viroid. *Phytopath.* 65: 1000–1003.
- [31] Horst R.K., Kryczyński S.P. 1971. The effect of temperature on symptom expression of chrysanthemum inoculated with chlorotic mottle virus. *Phytopath.* 61: 895–896.
- [32] Horst R.K., Langhans R.W., Smith S.H. 1977. Effects of chrysanthemum stunt, chlorotic mottle, aspermy and mosaic on flowering and rooting of chrysanthemums. *Phytopath.* 67: 9–14.
- [33] Jerzy M. 2000. Chryzantemy – odmiany i uprawa. PWRiL, Warszawa.
- [34] Kamińska M. 1979. Choroby wirusowe złożenia. *Post. Nauk Rol.* 5: 97–110.
- [35] Kamińska M., Korbin M. 1991. Occurrence of tomato spotted wilt virus in Polish greenhouses. *Phytopath. Pol.* XII: 9–14.
- [36] Kormelink R., de Haan P., Peters D., Goldbach R. 1992. Viral RNA synthesis in *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) infected *Nicotiana rustica* plants. *J. Gen. Virol.* 73: 687–693.
- [37] Kryczyński S. 1997. Choroby wirusowe złożenia. *Wiadomości chryzantemowe* 21: 91–117.
- [38] Kryczyński S. 1998. Zmiany zagrożenia złożenia przez wirusy w Polsce na przestrzeni lat. *Zesz. Nauk. AR Kraków* 333: 707–711.
- [39] Kryczyński S. 2002. Klasyfikacja wirusów roślin uznanych oficjalnie przez ICTV z propozycjami polskich nazw tych wirusów. *Post. Nauk Rol.* 4: 63–103.
- [40] Kryczyński S., Balukiewicz A., Gólnik K. 2005. Tospowirusy – niezwykła grupa wirusów roślin. *Post Nauk Rol.* 1: 17–31.

- [41] Kryczyński S.P., Horst R.K., Dimock A.W. 1971. Some properties of chrysanthemum chlorotic mottle virus. *Phytopath.* 61: 899.
- [42] Kryczyński S., Paduch-Cichal E. 1987. A comparative study of four viroids of plants. *J. Phytopath.* 120: 121–129.
- [43] Kryczyński S., Paduch-Cichal E. 1991. Wiroidy jako odrębna grupa patogenów roślin. Część IV. Inne metody wykrywania wiroidów w roślinach. *Post. Nauk Rol.* 4-5-6: 61–73.
- [44] Kryczyński S., Stawiszyńska A. 1996. Virus diseases in chrysanthemum propagative material. *Phytopathol. Pol.* 11: 85–92.
- [45] Kryczyński S., Stawiszyńska A., Garbaczewska G. 1983. A comparison of indicator plants, agglutination test and electron microscope for the detection of chrysanthemum virus B in chrysanthemum plants. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 291: 187–194.
- [46] Kryczyński S., Stawiszyńska A., Wypijewski K., Rezler A. 1999. Attempts to use RT-PCR technique in research on viroid transport in plants. *Phytopathol. Pol.* 17: 81–89.
- [47] Landry P., Thompson D., Perreault J.P. 2004. The role of viroids in gene silencing: the model case of *Peach latent mosaic viroid*. *Canad. J. Plant Path.* 26: 31–38.
- [48] Marchoux G., Gebre-Selassie K., Villeveille M. 1991. Detection of tomato spotted wilt virus and transmission by *Frankliniella occidentalis* in France. *Plant Path.* 40: 347–351.
- [49] Matteoni J.A., Allen W.R. 1989. Symptomatology of tomato spotted wilt virus infection in florists' chrysanthemum. *Canad. J. Plant Path.* 11: 373–380.
- [50] Navarro B., Flores R. 1997. The agent of chrysanthemum chlorotic mottle disease: a non-typical viroid with hammerhead structures in both polarity strands. EMBO Workshop „Molecular mechanisms in the replicative cycle of viruses in plants”. Las Navas del Marqués, Spain, June 15–19, 1997. Abstracts of papers.
- [51] Niblett C.L., Dickson E., Fernow K.H., Horst R.K., Zaitlin M. 1978. Cross protection among four viroids. *Virology* 91: 198–203.
- [52] Noordam D. 1952. Virusziekten bij chrysanten in Nederland. *Tijdschrift over Plantenziekten* 58: 123–189.
- [53] Owens R.A., Hammond R.W. 1987. Viroid function. Molecular biology of viroid-host interactions. W: The Viroids. T.O. Diener (red.), Plenum Press, New York and London: 167–188.
- [54] Paduch-Cichal E., Kryczyński S. 1987. A low temperature therapy and meristem-tip culture for eliminating four viroids from infected plants. *J. Phytopath.* 118: 341–346.
- [55] Paludan N. 1985. Inactivation of viroids in chrysanthemum by low-temperature treatment and meristem-tip culture. *Acta Hort.* 164: 181–186.
- [56] Peters D. 1998. An update list of plant species susceptible to tospoviruses. W: Recent progress in tospoviruses and thrips research. D.Peters i R. Goldbach (red.), Wageningen, The Netherlands: 107–110.
- [57] Romaine C.P., Horst R.K. 1975. Suspected viroid etiology for chrysanthemum chlorotic mottle disease. *Virology* 64: 86–95.
- [58] Stack P.A., Stack L.B., Drummond F.A. 1997. A two-year grower survey of thrips and *Tospovirus* incidence and management in Maine greenhouses. *J. Agric. Entomol.* 14(2): 205–224.
- [59] Teyssier D., Dunez J. 1971. Le rabougrissement du chrysanthème: symptômes et detection. *Ann. Phytopath.* 3(1): 63–71.
- [60] Ullmann D.E., Cho J.J., Mau R.F.L., Hunter W.B., Westcott D.M., Custer D.M. 1992. Thrips – tomato spotted wilt interactions. Morphological, behavioral and cellular components influencing thrips transmission. W: Advances in disease vector research. K.E. Harris (red.), Springer Verlag, New York: 195–239.
- [61] Verhoeven J.T.J., Roenhorst J.W. 1994. Tomato spotted wilt virus: ecological aspects in ornamental crops in the Netherlands from 1989 up to 1991. *Acta Hort.* 337: 178–182.
- [62] Verhoyen M., Goffolt A. 1990. New outbreak in Belgium of tomato spotted wilt virus transmitted by thrips. *Mededel. Fac. Landbou. Rijksuniv. Gent* 55: 1059–1069.
- [63] Wijkamp I., van Lent L., Kormelink R., Goldbach R., Peters D. 1993. Multiplication of tomato spotted wilt virus in its insect vector, *Frankliniella occidentalis*. *J. Gen. Virol.* 74: 341–349.

# The most important viruses and viroids of chrysanthemum with special reference to this problem in Poland

**Key words:** chrysanthemum viruses and viroids, TAV, CVB, TSWV, CSVd, CChMVd, detection, control

## Summary

Paper presented the literature review concerning three chrysanthemum viruses (*Tomato aspermy virus*, *Chrysanthemum virus B* and *Tomato spotted wilt virus*) and two chrysanthemum viroids (*Chrysanthemum stunt viroid* and *Chrysanthemum chlorotic mottle viroid*). The characteristics of pathogens were presented as well as description of the diseases they produce in chrysanthemum plants. The incidence of these viruses and viroids in the world and especially in Poland were discussed, as well as the losses they cause in chrysanthemum production. Some methods of virus detection and disease control were described with some recommendations for Polish chrysanthemum growers.



## Znaczenie aminokwasów w interakcjach mszyce–rośliny żywicielskie

**Cezary Sempruch**

*Katedra Biochemii i Biologii Molekularnej, Akademia Podlaska,  
ul. B. Prusa 12, 08-110 Siedlce  
e-mail: cezar@ap.siedlce.pl*

**Słowa kluczowe:** aminokwasy, aminokwasy niebiałkowe, mszyce, interakcje rośliny–mszyce, odżywcze substancje azotowe

### Wstęp

We współczesnych programach ochrony upraw przed kompleksem chorób i szkodników ważnym elementem jest naturalna odporność roślin jako alternatywa lub uzupełnienie tradycyjnych metod, wymagających stosowania kosztownych środków chemicznych lub preparatów biologicznych. Racjonalne jej wykorzystanie wymaga dogłębnej wiedzy dotyczącej zawartości określonych składników chemicznych oraz enzymatycznej regulacji ich przemian. W wielu pracach podkreśla się znaczenie aminokwasów jako substancji decydujących o wartości odżywczej roślin żywicielskich dla kłujaco-ssących owadów [19, 42, 46] oraz ich wpływ na wzrost i rozwój fitofagów [31, 36].

W opinii Douglas [25] sok floemowy odznacza się stosunkowo wysoką zawartością substancji odżywczych oraz niskim stężeniem toksyn i antyfidantów, w porównaniu z wieloma innymi tkankami roślinnymi. To przyczynia się do wyboru rurek sitowych, jako miejsca żerowania, przez owady z rzędu pluskwiaków (*Hemiptera*). Sok floemowy zawiera ok. 0,8–4,5% aminokwasów [42]. Wykazano, że w soku floemowym izolowanym z ogonków liściowych dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima* /DUTCH/) występowało ponad 400 składników chemicznych, a wśród 90 zidentyfikowanych związków dominowały aminokwasy i cukrowce [27].

## Wytwarzanie i transport aminokwasów w tkankach roślin

Do najważniejszych procesów metabolicznych, warunkujących zawartość aminokwasów w tkankach roślin, należy pobieranie azotu i włączanie tego pierwiastka w struktury roślinnych związków azotowych. Rentsch i in. [39] podają, że za pobieranie organicznych i nieorganicznych form azotu ze środowiska oraz syntezę roślinnych związków azotowych (głównie aminokwasów) odpowiedzialne są tylko dojrzałe organy roślin, tzw. donory (ang. source organs). Akceptorami (ang. sinks) wytwarzanych składników odżywczych są natomiast organy rozwijające się, tj. młode liście, kwiaty i nasiona. Większość gatunków roślin pobiera azot z podłoża w postaci jonów  $\text{NO}_3^-$  lub  $\text{NH}_4^+$  [55]. Asymilacja jonów amonowych przebiega z udziałem szeregu transporterów, a pobrany kation  $\text{NH}_4^+$  może być bezpośrednio przyłączany do łańcuchów węglowych ketokwasów organicznych [3]. Redukcyjna asymilacja azotanów jest natomiast procesem stopniowym, wymagającym znacznych nakładów energetycznych, sięgających nawet powyżej 10% energii wytwarzanej w procesie fotosyntezy w ciągu jednego dnia [54]. W pierwszym etapie aniony  $\text{NO}_3^-$  są redukowane do  $\text{NO}_2^-$  pod wpływem reduktazy azotanowej (EC 1.6.6.1-3; NR), a w następnym do  $\text{NH}_4^+$  z udziałem reduktazy azotynowej (EC 1.7.7.1; NiR). Pierwsza z tych reakcji może przebiegać zarówno w korzeniach, jak i w liściach, natomiast druga odbywa się w chloroplastach organów fotosyntetyzujących, z wykorzystywaniem zredukowanej ferredoksyny jako donora elektronów. Bezpośrednio pobrane z podłoża lub otrzymane w wyniku redukcji azotanów kationy  $\text{NH}_4^+$  włączane są w cząsteczki aminokwasów przy współudziale syntetazy glutaminowej (EC 6.3.1.2; GS) i syntazy glutaminianowej (EC 1.4.1.13; GOGAT) w cyklu GS-GOGAT lub dehydrogenazy glutaminianowej (EC 1.4.1.3; GDH). W przemianach tych uczestniczy kwas glutaminowy, pełniący kluczową rolę w syntezie cząsteczek kolejnych aminokwasów, jako ich prekursor bądź dawca grupy aminowej w reakcjach transaminacji [33].

Oprócz dostępu do źródeł azotu, biosyntezę aminokwasów warunkuje także dostateczne zaopatrzenie roślin w szkielety węglowe, wytwarzane w procesie fotosyntezy [35]. Stąd obecnie coraz częściej efektywność procesu asymilacji mineralnych form azotu rozpatrywana jest z uwzględnieniem poziomu cukrowców i rozpuszczalnych związków azotowych jako proporcji C/N [55]. W przemianach tych system korzeniowy jest donorem azotu, a pęd akceptorem, natomiast pęd i liście pełnią rolę donora fotoasymilatów (łańcuchów węglowych), a korzenie akceptora.

Zdaniem Fischer i in. [28] roślinne związki azotowe transportowane są między różnymi organami roślin, głównie w formie aminokwasów, zarówno za pośrednictwem floemu, jak i ksylemu. Jednak ostatnie prace dowodzą, że decydującą rolę w tym procesie odgrywają rurki sitowe [3]. Mechanizm „eksportu aminokwasów” z komórek liści i ich przemieszczania do elementów floemu jest wciąż nie do końca wyjaśniony. Uważa się, że przenoszenie aminokwasów do floemu z miejsca ich biosyntezy odbywa się wbrew gradientowi stężeń z wykorzystaniem mechanizmu

symportu protonowego [3]. W procesie tym kluczową rolę odgrywają białkowe transportery aminokwasów (ang. amino acids transporters, AMT), które ze względu na przebieg ekspresji genów, związanej z procesem ich biosyntezy, zaliczane są do pięciu rodzin genowych [39]. Skład aminokwasowy soku floemowego różni się u poszczególnych gatunków roślin. U jęczmienia kwas glutaminowy stanowi do 50%, a asparaginowy 20% całkowitej zawartości aminokwasów. U pszenicy udział kwasu glutaminowego i asparaginowego w całkowitym stężeniu aminokwasów kształtuje się odpowiednio na poziomie 30 i 20%. Kwas glutaminowy dominuje także w składzie soku floemowego szpinaku i buraka zwyczajnego, podczas gdy u lucerny aminokwasem dominującym jest kwas asparaginowy [3]. Ponadto stwierdzono, że poziom aminokwasów jest zdecydowanie wyższy we floemie rozwijających się liści pszenicy niż dojrzałych, a zawartość tych związków w pojedynczych rurkach sitowych ulega znacznym wahaniom w ciągu dnia [29].

### **Zawartość aminokwasów w tkankach roślin a wrażliwość na mszyce i inne pluskwiaki równoskrzydłe**

Wyniki wielu badań dowiodły, że wysokie stężenie aminokwasów w tkankach różnych gatunków roślin żywicielskich korzystnie wpływała na biologię takich gatunków mszyc, jak mszyca brzoskwiowa (*Myzus persicae* /SULZ./), mszyca grochowianka (*Acyrtosiphon pisum* /HARRIS/), mszyca trzmielinowo-burakowa (*Aphis fabae* /SCOP./) oraz mszyca zbożowa (*Sitobion avenae* /F./) [4, 30, 46, 53]. Niski poziom tych związków w liściach flagowych i kłosach względnie odpornej pszenicy ozimej spowalniał rozwój oraz obniżał płodność bezskrzydłych samic *S. avenae* [10]. Sandström [41] stwierdził, że zmiana żywiciela przez mszycę czeremchowo-zbożową (*Rhopalosiphum padi* /L./) wiązała się ze spadkiem wartości odżywczej roślin, wynikającej z obniżenia zawartości aminokwasów w soku floemowym. We floemie czeremchy zwyczajnej (*Prunus padus* L.), będącej pierwotnym żywicielem dla mszycy czeremchowo-zbożowej, stężenie tych związków wzrastało podczas pęknięcia pąków i późnego kwitnienia (wiosną), obniżało się w dojrzałych liściach (latem) i powtórnie zwiększało się na początku starzenia się liści (jesienią). Wiosenne pokolenia mszyc rozwijały się szybko na czeremchowej znajdującej się w fazach rozwojowych od pęknięcia pąków do wczesnego kwitnienia i ginęły na dojrzałych i starzejących się liściach. Tempo rozwoju letnich pokoleń na jęczmieniu (żywicielu wtórnym) było wyższe niż na świeżo wykształconych liściach *P. padus*. Wyniki badań Leszczyńskiego i in. [34] wskazują, że wiosennym migracjom *R. padi* z czeremchy na pszenżyto towarzyszył spadek zawartości niektórych aminokwasów w liściach żywiciela pierwotnego, głównie seryny, alaniny, waliny, izoleucyny, tyrozyny, histydyny i lizyny.

Pełna dieta mszyc zawiera m.in. 20 aminokwasów białkowych, spośród których do egzogennych zalicza się argininę, metioninę, histydynę, fenyloalaninę, tryptofan, lizynę, leucynę, izoleucynę, treoninę i walinę [2]. Wilkinson i Douglas [60] wykazali, że larwy *A. fabae* żerujące na sztucznych dietach pozbawionych histydy, metioniny, treoniny lub waliny odznaczały się ograniczoną przeżywalnością, gorszym przebiegiem rozwoju osobniczego i niższą wartością względnego wskaźnika wzrostu populacji ( $r_m$ ) niż przy niedoborze pozostałych aminokwasów egzogennych. Mszyca trzmielinowo-burakowa była szczególnie wrażliwa na spadek poziomu histydy, treoniny, tryptofanu i waliny. Cole [19] stwierdziła dodatnią korelację między stężeniem tyrozyny, alaniny, leucyny i kwasu glutaminowego oraz łącznym stężeniem wolnych aminokwasów we floemie kapusty, a wartością wskaźnika  $r_m$  dla mszycy kapuścianej (*Brevicoryne brassicae* /L./), odznaczającej się wąską specjalizacją pokarmową. Liczebność mszycy zbożowej dodatnio korelowała ze stężeniem metioniny, izoleucyny, leucyny, lizyny, kwasu asparaginowego, glicyny i seryny w kłosach pszenicy ozimej [48]. W przypadku pszenżyta ozimego wykazano natomiast dodatnie korelacje między liczebnością *S. avenae* a stężeniem glicyny i seryny oraz ujemną dla izoleucyny. W opinii Crafts-Brandner [20] obniżenie nawożenia azotowego bawełny wywoływało spadek stężenia aminokwasów w soku floemowym liści roślin tego gatunku, a w dalszej konsekwencji powodowało zmiany zawartości tych związków w tkankach i rosie miodowej mączlika ostroskrzydłego (*Bemisia tabaci* /GENN./, *Aleyrodidae*). U osobników żerujących na roślinach bawełny nawożonych niskimi dawkami azotu, poziom aminokwasów, a zwłaszcza glutaminy, był niski. Spadek ten w niewielkim stopniu dotyczył alaniny i proliny, co dowodzi, że zawartość tych aminokwasów utrzymywana jest w organizmie mączlika na wysokim poziomie pomimo obniżonej zawartości azotu w tkankach roślin. Niski poziom nawożenia azotowego bawełny powodował także zdecydowany spadek zawartości aminokwasów w rosie miodowej *B. tabaci*. Zwiększenie nawożenia azotowego wywoływało wzrost zawartości aminokwasów, a w szczególności asparaginy, w spadzi wydalanej przez osobniki tego gatunku. W składzie soku floemowego zarówno pierwotnych jak i wtórnych żywicieli *R. padi* i *A. fabae* dominował na ogół jeden bądź dwa spośród takich aminokwasów jak: asparagina, glutamina, kwas glutaminowy oraz homoseryna [1, 40]. Zdaniem Douglas [23] związki te są wykorzystywane przez fitofagi do biosyntezy innych aminokwasów. Dowiedziono ponadto [49], że sposób oddziaływania aminokwasów na biologię *S. avenae* zmienia się wraz ze wzrostem ich stężenia. Alanina i walina obecne w sztucznych dietach w stężeniu 10,0% stymulowały żerowanie bezskrzydłych samic, natomiast tyrozyna, leucyna, fenyloalanina, asparagina, a także kwas asparaginowy były fagosupresantami. Obniżenie stężenia do 1,0% powodowało zanik oddziaływania badanych aminokwasów z wyjątkiem alaniny, która stymulowała żerowanie *S. avenae* i tyrozyny, wykazującej właściwości antyfidantne.

W oddziaływaniach między roślinami i fitofagami specyficzną rolę pełnią także aminokwasy niebiałkowe. Należą one, w odróżnieniu od wolnych aminokwasów

białkowych, do grupy wtórnych metabolitów, wykazujących często właściwości toksyczne. Podstawowy mechanizm szkodliwości aminokwasów niebiałkowych dla roślinożerców wynika z faktu, iż są one antagonistami aminokwasów białkowych, stanowiąc inhibitory konkurencyjne w reakcjach przemiany materii [62]. Niektóre spośród tych związków, np. ornityna i 3,4-dihydroksyfenyloalanina (DOPA), charakteryzują się właściwościami antybiotycznymi w stosunku do *S. avenae* [11]. Ciepela i in. [16] wykazali, że wysoki stopień odporności pszenżyta ozimego odm. 'Lasko' na *S. avenae* wynikał z wysokiej zawartości ornityny,  $\beta$ -alaniny, kwasu  $\alpha$ -aminomasłowego (AABA), kwasu  $\gamma$ -aminomasłowego (GABA) oraz kwasu cysteinowego. Na podstawie badań w warunkach *in vitro* dowiedziono ponadto [17], że ornityna oraz kwasy  $\alpha$ -aminoadypinowy i cysteinowy dawkowane w stężeniu 1% hamowały żerowanie bezskrzydłych samic i larw mszycy zbożowej, natomiast kwas  $\alpha$ -aminoadypinowy i GABA w stężeniu 5% wykazywały właściwości fagostymulatorów w stosunku do samic uskrzydłych i larw *S. avenae*. Chen i in. [9] podają, że w roślinach z rodzaju ogórek (*Cucumis*) mechanizm detoksykacji silnie szkodliwego pirazolu polegał na włączaniu go w strukturę aminokwasu niebiałkowego  $\beta$ (pirozylo-1-yl)alaniny ( $\beta$ PA). Stwierdzono, że  $\beta$ PA nie wykazywała wpływu na wzrost i przeżywalność *A. pisum* i mszycy kruszynowo-ogórkowej (*Aphis gossypii* /GLOV./). Wolny pirazol odznaczał się natomiast silną toksycznością w stosunku do osobników mszycy grochowiej, żerującej na melonie, który nie jest jej rośliną żywicielską, oraz dla mszyc z gatunku *A. gossypii*, żerujących wcześniej na roślinach bawełny.

Przydatność pokarmowa roślin dla mszyc uzależniona jest nie tylko od sumarycznej zawartości i składu jakościowego aminokwasów, ale także od proporcji między ich poziomem a stężeniem innych związków organicznych. Dla wyboru żywiciela przez *A. fabae* duże znaczenie ma skład jakościowy aminokwasów oraz proporcje między sumarycznym ich poziomem, a stężeniem wtórnych metabolitów z grupy związków fenolowych [58]. Natomiast na przyrost masy ciała osobników *A. pisum* wpływało zarówno stężenie sacharozy i aminokwasów w tkankach roślin żywicielskich, jak i stosunek tych składników [53]. Zbliżone wyniki otrzymali Girousse i Bournoville [30], którzy podają, że odporność odmianowa lucerny na mszycę grochowiej zależy od poziomu aminokwasów i cukrowców oraz od stosunku zawartości obu tych grup pierwotnych metabolitów. Ciepela i in. [12] wykazali, że odmiana pszenżyta ozimego o niższej podatności na *S. avenae* odznaczała się wyższymi wartościami stosunku cukrowców rozpuszczalnych do azotu ogólnego i aminokwasów białkowych oraz stosunku aminokwasów niebiałkowych do białkowych niż odmiana chętniej akceptowana przez mszycę.

## Adaptacje mszyc do składu aminokwasowego soku floemowego roślin żywicielskich

Sok floemowy, będący głównym źródłem pokarmu dla mszyc, pomimo wysokiej zawartości związków azotowych, odznacza się niskim poziomem aminokwasów egzogennych. Według Sandström i Moran [42] aminokwasy egzogenne stanowią 15–48% całkowitej zawartości aminokwasów we floemie pszenicy i mleczu zwyczajnego (*Sonchus oleraceus* /L./), będących roślinami żywicielskimi dla *R. padi* i dla mszyc z gatunku *Uroleucon sonchi* /L./. Ponieważ białka tych owadów zawierają ok. 50% aminokwasów egzogennych, jedynie sok floemowy roślin mleczu zwyczajnego (zawierający w fazie wczesnego kwitnienia 48% tych związków) pokrywał zapotrzebowanie mszyc. Niedobory dotyczyły zwłaszcza metioniny i leucyny, których stężenie w wiązках sitowych obu tych gatunków roślin było zbyt niskie w stosunku do potrzeb owadów. Poziom aminokwasów w soku floemowym klonu jawora i śliwy domowej korelował z ich zawartością w spadzi zdobniczki jaworowej (*Drepanosiphum platanoides* /SCHR./) i mszycy śliwowo-trzcinowej (*Hyalopterus pruni* /GEOFF./) [23]. Zarówno w soku floemowym obu tych gatunków roślin, jak i w rosie miodowej zasiedlających je mszyc dominowały aminokwasy endogenne, tj. kwas glutaminowy, glutamina, asparagina i seryna. Ostatnie badania, prowadzone z wykorzystaniem rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana* /L./), dowiodły, że wyciszenie aktywności genu *AAP1*, kodującego permeazę aminokwasową (białko uczestniczące w transporcie aminokwasów w rurkach sitowych), miało wpływ na przebieg żerowania *M. persicae* i *B. brassicae* [32]. Mszyce zasiedlające zmodyfikowane rośliny dłużej penetrowały tkanki peryferyjne oraz krócej pobierały sok floemowy. Przyczyną tego mogła być zmiana w systemie sygnałów wykorzystywanych przez te owady do lokalizacji wiązek sitowych spowodowana blokadą genu *AAP1*.

Specyfika składu chemicznego soku floemowego (wysoki stosunek zawartości aminokwasów endogennych do egzogennych) spowodowała, że pluskwiaki równoskrzydłe wykształciły charakterystyczne adaptacje [25]. Jednym z takich przystosowań jest obecność w ciele tych owadów obligatoryjnych symbiotycznych bakterii z rodzaju *Buchnera*, zaopatrujących je w niezbędne substancje odżywcze [37, 57]. Symbionty te są zlokalizowane, w postaci wolnej, albo w powiązaniu z błonami biologicznymi, w cytoplazmie micetocytów (ang. mycetocytes), stanowiących specyficzne, duże (powyżej 100  $\mu\text{m}$  średnicy), nieaktywne mitotycznie komórki zawierające często poliploidalne jądra, a ich zniszczenie stwarza możliwość kontroli populacji szkodliwych owadów [26]. Pozbawione symbiontów (aposymbiotyczne) osobniki mszycy grochowiarki wykazywały ograniczone możliwości metabolizowania niektórych związków, co prowadziło do zaburzeń w przebiegu penetracji tkanek roślinnych i wydalaniu rosy miodowej [59]. Według Douglas [24] zniszczenie endosymbiontów w początkowych etapach rozwoju *A. pisum* powodowało znaczne wydłużenie jej rozwoju. Autorka zauważyła, że egzogenne aminokwasy aromatyczne, tj. fenyloalanina i tryptofan,

występujące w bardzo małych ilościach w tkankach embrionów mszyc aposymbiotycznych, limitowały rozwój embrionalny tych owadów. Poziom lizyny warunkował natomiast kształtowanie się komórek macierzystych u larw, a metioniny u starszych aposymbiotycznych osobników mszycy grochowiej. Dodatek do diety *A. pisum* aminokwasów egzogennych do pewnego stopnia niwelował szkodliwe skutki zniszczenia endosymbiontów, zwiększając całkowitą zawartość aminokwasów oraz podnosząc liczbę embrionów [61]. Stwierdzono, że partenogenetyczne osobniki *A. pisum* były infekowane przez bakterie *Buchnera* w bardzo wczesnych etapach rozwoju, dzięki czemu podczas rozwoju embrionalnego następowała ekspresja 147 genów, warunkujących m.in. biosyntezę aminokwasów egzogennych [5].

W opinii Dale i Moran [21], w trakcie ewolucji, bakterie *Buchnera* zachowały zdolność biosyntezy aminokwasów egzogennych, tracąc jednocześnie możliwość wytwarzania aminokwasów endogennych. Genomy *Buchnera* należą do najmniejszych (0,50 do 0,65 Mbp (mega par zasad)) [37]. Pomimo tak znacznej redukcji genomu, mikroorganizmy te zachowały jednak zdolność do biosyntezy wszystkich aminokwasów egzogennych, co wynika przede wszystkim z wysokiej skłonności do mutacji w odniesieniu do par adeniny i tyminy i w mniejszym stopniu, wydajnością wykorzystania kodonów [8]. Drugi z wymienionych mechanizmów wiąże się z istotną korelacją między względną liczbą cząsteczek tRNA a składem kodonów genomu *Buchnera*. Efektem tej zależności jest selekcja materiału transkrypcyjnego w kierunku wydajniejszego przebiegu łączenia się kodonów z antykodonami, zwłaszcza w przypadku cząsteczek tRNA transportujących aminokwasy egzogenne. Stres żywieniowy, indukuje bowiem u mszyc nadekspresję wielu izoakceptorów tRNA mikrosymbiontów, co warunkuje korelację między względnymi poziomami ekspresji a organizacją jednostki transkrypcyjnej.

Zdaniem Rahbé i in. [38] zdolność biosyntezy aminokwasów przez bakterie *Buchnera* ma duże znaczenie dla interakcji zachodzących między mszycą grochowiej i jej parazytoidem, błonkówką z rodziny męczelkowate (*Braconidae*) z gatunku *Aphidius ervi* /HALIDAY/. W tkankach spasożytowanych mszyc następował wzrost zawartości aminokwasów, rozpoczynający się po czterech dniach od złożenia jaj do ciała samicy. Maksymalny wzrost poziomu aminokwasów nastąpił po sześciu dniach, przy czym najbardziej zwiększył się poziom tyrozyny. Intensywne nagromadzenie tego aminokwasu prowadziło do selektywnego ograniczenia wartości odżywczej spasożytowanych mszyc dla *A. ervi*. Wzrost poziomu tyrozyny w ciele mszyc indukowany był poprzez spasożytowanie, które bezpośrednio pobudzało transfer fenyloalaniny od bakterii do tkanek mszycy, gdzie następowało jej przekształcenie w tyrozinę.

Oprócz obligatoryjnych symbiontów z rodzaju *Buchnera* wiele gatunków mszyc fakultatywnie współpracuje z innymi gatunkami bakterii, np. *Salmonella enterica*, *Yersinia pestis*, czy *Hamiltona defensas*, które uczestniczą w reakcjach obronnych przeciwko parazytoidom i chorobotwórczym grzybom oraz zwiększają tolerancję na stres cieplny [37].

## Żerowanie mszyc i innych pluskwiaków równoskrzydłych a zawartość i metabolizm aminokwasów w tkankach roślin żywicielskich

Następstwem reakcji roślin na atak patogenów lub fitofagów są głębokie zmiany w składzie chemicznym ich tkanek, obejmujące m.in. związki azotowe. Blackmer i Byrne [6] podają, że żerowanie mszycy świerkowej zielonej (*Elatobium abietinum* /WALK./) na igłach świerka wywoływało wzrost zawartości histydyny, izoleucyny, leucyny, fenyloalaniny, treoniny i waliny oraz spadek zawartości kwasu asparaginoowego i asparaginy. Liczne kolonie *A. fabae* na wyce indukowały wzrost poziomu asparaginy, kwasu asparaginoowego, alaniny, proliny, fenyloalaniny, waliny, leucyny, izoleucyny i metioniny, natomiast w miejscach ataku mszyc tworzących galasy silnie zwiększała się zawartość asparaginy, a w mniejszym stopniu lizyny, glicyny i seryny. Żerowanie *B. tabaci* na roślinach melona, we wszystkich fazach jego rozwoju vegetatywnego powodowało wzrost poziomu cysteiny, izoleucyny, leucyny, tyrozyny, fenyloalaniny, GABA, ornityny, lizyny, histydyny, argininy i łącznej zawartości aminokwasów w wiązkach przewodzących liści, co wskazuje na możliwość kontroli przez tego roślinożercę poziomu aminokwasów w miejscu pobierania pokarmu [6].

Zmiany zawartości aminokwasów w tkankach roślin zaatakowanych przez mszyce mogą mieć charakter systemiczny, dotyczą bowiem nie tylko miejsca bezpośrednio uszkodzanego, ale także innych, często odległych organów. Mszyce atakujące zboża – *Schizaphis graminum* /ROND./ i rosyjska mszyca zbożowa (*Diuraphis noxia* /MORDVILKO/), wywołujące u zaatakowanych roślin chlorozę, powodowały też silny wzrost zawartości aminokwasów, zwłaszcza egzogennych, w soku floemowym pszenicy i jęczmienia [43]. Zmiany te były systemiczne, obejmowały bowiem różne strefy zaatakowanego liścia. W przypadku *R. padi*, która nie wywołuje makroskopowych zmian w tkankach roślin żywicielskich, modyfikacje składu aminokwasowego soku floemowego były nieznaczne. Według Ciepieli i in. [18] żerowanie *S. avenae* w kłosach pszenicy ozimego powodowało wzrost stężenia wolnych aminokwasów z wyjątkiem fenyloalaniny i histydyny, przy czym zmiany widoczne były nie tylko w bezpośrednio zaatakowanych organach generatywnych, lecz także w innych częściach roślin. Systemiczne zmiany stężenia aminokwasów wynikać mogą ze wzmożonego przepływu asymilatów i innych substancji odżywczych do miejsca żerowania owadów z innych części roślin [6]. Jednocześnie rośliny wykształciły mechanizmy obronne, polegające na blokadzie przepływu soku floemowego do miejsca ataku, wykorzystując lektyny lub kalozę do zatykania rurek sitowych [22].

Z przedstawionych danych literaturowych wynika, że charakter zmian zawartości aminokwasów w tkankach roślin, wywołanych żerowaniem mszyc, uzależniony jest zarówno od gatunku fitofaga jak i od gatunku, odmiany, a nawet części rośliny żywicielskiej. Oddziaływania te mogą być dodatkowo modyfikowane przez różnicowany czas trwania ataku owadów. Przykładowo w zaatakowanych przez *S. ave-*



nae kłosach podatnej odmiany pszenicy następował wzrost zawartości aminokwasów egzo- i endogennych po pierwszej dobie ataku mszyc oraz spadek w trakcie dalszego żerowania [10]. W kłosach mniej podatnej odmiany początkowo odnotowano spadek poziomu aminokwasów, a wzrost ich zawartości miał miejsce po tygodniu. Podobnie w kłosach podatnej odmiany pszenżyta ozimego mszyca zbożowa powodowała wzrost zawartości wolnych aminokwasów tuż po ataku, a w kłosach bardziej odpornej odmiany dopiero po czterech dniach [46].

Mszycy, dzięki kłująco-ssącemu narządowi gębowemu, docierają do rurek sitowych, wprowadzając kłujki głównie poprzez przestrzenie międzykomórkowe, co powoduje nieznaczne mechaniczne uszkodzenia samych komórek rośliny żywicielskiej [56]. Dlatego uważa się, że reakcje roślin na ich żerowanie indukowane są bądź przez związki wprowadzane wraz ze śliną do atakowanych tkanek bądź też przez substancje uwalniane z uszkodzonych przez owada komórek [7]. Ślina mszyc zawiera szereg enzymów, m.in. proteolitycznych, które rozkładają peptydy i białka do wolnych aminokwasów. Według Semprucha i Ciepeli [47] mszyca zbożowa może także wpływać na aktywność proteaz roślinnych, co umożliwi jej wykorzystywanie aminokwasów związanych w cząsteczkach białek. Wykazano, że żerowanie *S. avenae* wywoływało silniejszy wzrost aktywności proteaz izolowanych w pH 5,0 i pH 7,0 w kłosach podatnych odmian pszenżyta [14]. Następstwem ataku mszycy zbożowej były także zmiany w aktywności syntetazy glutaminowej (GS) w roślinach pszenżyta ozimego. Ich charakter uzależniony był od odmiany i organu pszenżyta, a także od czasu żerowania i liczebności mszyc [51]. Wykazano ponadto, że *S. avenae* wpływała na przebieg takich przemian metabolicznych aminokwasów, jak: deaminacja, transaminacja i dekarboksylacja. Ciepela i in. [13] zauważyli, że żerowanie tego szkodnika na odmianach pszenżyta odznaczających się różnym stopniem podatności, wywoływało spadek aktywności aminotransferazy asparaginianowej (AspAT; EC 2.6.1.1) i wzrost aktywności aminotransferazy alaninowej (AlAT; EC 2.6.1.2), należących do enzymów katalizujących przenoszenie grup aminowych z jednych aminokwasów na drugie, co w wielu przypadkach stanowi końcowy etap ich biosyntezy. Ponadto w interakcjach między mszycami a ich roślinami żywicielskimi, szczególną rolę mogą odgrywać przemiany metaboliczne, prowadzące do spadku poziomu aminokwasów oraz do wzrostu poziomu niektórych ich produktów, zwłaszcza wtórnych metabolitów. Przykładem takich przemian mogą być reakcje z udziałem amoniakolizy L-fenylalaniny (PAL; EC 4.1.3.5) i amoniakolizy L-tyrozyny (TAL; EC 4.1.3.-), prowadzące do wytworzenia odpowiednio kwasu *trans*-cynamonowego i *p*-kumarowego, charakteryzujących się właściwościami antybiotycznymi w stosunku do mszyc zbożowych. Stwierdzono, że zmiany aktywności PAL i TAL w pszenżycie zaatakowanym przez mszycę zbożową uzależnione były od genotypu tych roślin i pozostawały w ścisłym związku z poziomem ich podatności [15]. Sempruch [44, 45] oraz Sempruch i in. [52] stwierdzili, że w interakcjach między pszenżycem a *S. avenae* ważną rolę odgrywała równowaga między zawartością niektórych aminokwasów, a powstającymi w wyniku ich dekarboksylacji aminami lub ich fenolowymi

pochodnymi. Zakłócenie stanu równowagi może być spowodowane indukcją aktywności dekarboksylazy ornityny (ODC; EC 4.1.1.17) i dekarboksylazy lizyny (LDC; EC 4.1.1.18), które odgrywają kluczową rolę w biosyntezie poliamin oraz dekarboksylazy tyrozyny (TYDC; 4.1.1.25), jako kluczowego enzymu biosyntezy tyraminy. Wysoka aktywność tych enzymów prowadziła z jednej strony do spadku zawartości aminokwasów, a z drugiej do powstawania nadmiernych ilości amin lub ich amidowych pochodnych. Produkty kondensacji amin z kwasami hydroksycynamonowymi (HCAA), odgrywały ważną rolę w oddziaływaniach między roślinami a patogenami, pełniąc rolę fitoaleksyn, natomiast w stosunku do szkodliwych stawonogów efektywnych neurotoksyn. Innym przykładem przemian metabolicznych przebiegających na pograniczu pierwotnego i wtórnego metabolizmu jest degradacja egzogennej dla mszyc argininy do niebiałkowej ornityny, katalizowana przez arginazę (EC 3.5.3.1). Zmiany w aktywności tego enzymu w pszenzycie ozimym wywołane atakiem *S. avenae*, uzależnione były od genotypu żywiciela oraz od liczebności i czasu żerowania mszyc [50]. Indukcja jego aktywności po dwóch tygodniach żerowania mszyc prowadziła do zakłócenia proporcji między zawartością argininy i ornityny, co z kolei ograniczało wartość odżywczą pszenżyta dla *S. avenae*.

## Podsumowanie

Aminokwasy należą do najważniejszych składników pokarmowych dla owadów roślinożernych. Wartość odżywcza tkanek roślin żywicielskich dla mszyc kształtuje zawartość tych związków, a tym samym reguluje ich żerowanie, rozwój osobniczy, płodność oraz tempo rozwoju populacji. Zmiany w zawartości aminokwasów w tkankach pierwotnych i wtórnych żywicieli, mogą być przyczyną heteroecji u gatunków różnorodnych. W interakcjach między roślinami i mszycami szczególne znaczenie przypisuje się aminokwasom egzogennym oraz aminokwasom niebiałkowym. Obok ich ogólnej zawartości i składu jakościowego, na wrażliwość roślin na mszyce mogą także wpływać proporcje między poziomem tych związków, a zawartością innych metabolitów, tj. cukrowców czy fenoli.

Sok floemowy roślin, będący głównym źródłem pokarmu dla owadów mających aparat gębowy klująco-ssący, odznacza się wysokim stosunkiem wartości aminokwasów endo- do egzogennych. Za wytworzenie wszystkich aminokwasów egzogennych z dominujących składników azotowych soku floemowego odpowiedzialne są obligatoryjne endosymbionty bakteryjne z rodzaju *Buchnera*.

Atak mszyc wywołuje zmiany w zawartości aminokwasów w tkankach żywicieli, których charakter uzależniony jest od gatunku, odmiany i organu rośliny oraz od gatunku, liczebności i czasu żerowania fitofaga. W roślinach zasiedlonych przez mszyce następować mogą zakłócenia transportu floemowego oraz zmiany tempa hydrolizy białek roślinnych oraz transaminacji, deaminacji i dekarboksylacji aminokwasów, modyfikujących wartość odżywczą roślin dla tych fitofagów.

## Literatura

- [1] Amiard V., Morvan-Bertrand A., Cliquet J. B., Billard J.P., Huault C., Sandström J.P., Prud'homme M.P. 2004. Carbohydrate and amino acid composition in phloem sap of *Lolium perenne* L. before and after defoliation. *Can. J. Bot.* 82: 1594–1600.
- [2] Auclair J.L. 1984. Nutritional physiology of aphids biotypes. *Mat. XVII Int. Congr. Ent., Hamburg*: 167–169.
- [3] Barneix A.J. 2007. Physiology and biochemistry of source-regulated protein accumulation in the wheat grain. *J. Plant Physiol.* 164: 581–590.
- [4] Benewicz J. 1995. Wrażliwość odmian i rodów buraka cukrowego na *Aphis fabae* i *Myzus persicae*. *Mat. 2. Krajowego Symp.: Odporność roślin na choroby, szkodniki i niesprzyjające czynniki środowiska*, Warszawa: 351–353.
- [5] Bermingham J., Charles H., Calevero F., Wilkinson T. 2007. Comparative analysis of gene expression in an aphid-*Buchnera* symbiosis: the role of *Buchnera* in the nutrition of aphid embryos. *Abstracts Comp. Bioch. Physiol. Part A* 146: 222.
- [6] Blackmer J.L., Byrne D.N. 1999. The effect of *Bemisia tabaci* on amino acid balance in *Cucumis melo*. *Entomol. Exp. Appl.* 93: 315–319.
- [7] Bruce T.J.A., Pickett J.A. 2007. Plant defense signaling induced by biotic attacks. *Cur. Opinion Plant Biol.* 10: 387–392.
- [8] Charles H., Calevero F., Vinuelas J., Fayard J.M., Rahbé Y. 2006. Codon usage bias and tRNA over-expression in *Buchnera aphidicola* after aromatic amino acid nutritional stress on its host *Acyrtosiphon pisum*. *Nucleic Acid Res.* 34: 4583.
- [9] Chen J.Q., Rahbé Y., Delobel B. 1999. Effects of pyrazole compounds from melon on the melon aphid *Aphis gossypi*. *Phytochemistry* 50: 1117–1122.
- [10] Ciepiela A.P., Sempruch C. 1993. Zmiany w zawartości wolnych aminokwasów i azotu rozpuszczalnego w kłosach wybranych odmian pszenicy ozimej wywołane żerowaniem mszycy zbożowej. *Zesz. Nauk. WSRP Siedlce, Seria Nauk. Przyr.* 34: 117–129.
- [11] Ciepiela A.P., Sempruch C. 1999. Effect of L-3,4-dihydroxyphenylalanine, ornithine and  $\gamma$ -aminobutyric acid on winter wheat resistance to grain aphid. *J. Appl. Ent.* 123: 285–288.
- [12] Ciepiela A.P., Sempruch C., Chrzanowski G. 1999. Evaluation of natural resistance of winter triticale cultivars against grain aphid using food coefficients. *J. Appl. Ent.* 123: 491–494.
- [13] Ciepiela A.P., Sempruch C., Filipczuk A. 1997. Zmiany aktywności aminotransferazy asparaginianowej (AspAT) i alaninowej (AlAT) w siewkach wybranych odmian pszenicy ozimej wywołane żerowaniem mszycy zbożowej (*Sitobion avenae* /F./). *Streszczenia XXXIII Zjazdu Polskiego Towarzystwa Biochemicznego*, Katowice: 202.
- [14] Ciepiela A.P., Sempruch C., Józwiak B. 1995. Badania nad aktywnością proteaz kłosów pszenicy zasiedlonych i niezasiedlonych przez mszycę zbożową. *Mat. 50 Zjazdu Polskiego Towarzystwa Botanicznego*, Kraków: 56.
- [15] Ciepiela A.P., Sempruch C., Józwiak B. 1995. Metabolizm fenyloalaniny i tyrozyny w kłosach pszenicy indukowany żerowaniem mszycy zbożowej. *Mat. XXXV Sesji Nauk. IOR, Poznań*: 82–84.
- [16] Ciepiela A.P., Sempruch C., Kaszyński W. 1994. Participation of chosen non-protein amino acids in constitutive resistance of winter triticale to grain aphid. *Rocz. Nauk Rol., Ser. E* 1/2: 99–104.
- [17] Ciepiela A.P., Sempruch C., Kaszyński W., Łyszcz J. 1996. Influence of some non-protein amino acids on biology of grain aphid (*Sitobion avenae* F.). *Plant Breed. Seed Sci.* 1–2: 91–97.
- [18] Ciepiela A.P., Sempruch C., Michalak A. 2003. The systemic changes in content of free amino acids in the organs of winter triticale induced by grain aphid (*Sitobion avenae* F.) feeding. *Pol. J. Natural Sci. (Suppl.)* 1: 51.
- [19] Cole R.A. 1997. The relative importance of glucosinolates and amino acids to the development of two aphid pests *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* on wild and cultivated brassica species. *Ent. Exp. Appl.* 85: 121–133.
- [20] Crafts-Brandner S.J. 2003. Plant nitrogen status rapidly alters amino acid metabolism and extraction in *Bemisia tabaci*. *J. Insect Physiol.* 48: 33–41.
- [21] Dale C., Moran N.A. 2006. Molecular interactions between bacterial symbionts and their hosts. *Cell* 126: 453–465.
- [22] De Wet L.R., Botha C.E.J. 2007. Resistance or tolerance: an examination of aphid (*Sitobion yakini*) phloem feeding on Beta and Beta-Dn wheat (*Triticum aestivum*). *South African J. Bot.* 73: 35–39.
- [23] Douglas A.E. 1993. The nutritional quality of phloem sap utilized by natural aphid populations. *Ecol. Entomol.* 18: 31–38.
- [24] Douglas A.E. 1996. Reproductive failure and the free amino acids pools in pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*) lacking symbiotic bacteria. *J. Insect Physiol.* 42: 247–255.
- [25] Douglas A.E. 2006. Phloem-sap feeding by animals: problems and solutions. *J. Exp. Bot.* 57: 747–754.

- [26] Douglas A.E. 2007. Symbiotic microorganisms: untapped resources for insect pest control. *Trends Biotech.* 25: 338–342.
- [27] Fiehn O. 2003. Metabolic networks of *Cucurbita maxima* phloem. *Phytochemistry* 62: 875–886.
- [28] Fischer W.N., André B., Rentsch D., Krolkiewicz S., Tegeder M., Breitskreuz K., Frommer W.B. 1998. Amino acid transport in plants. *Trends Plant Sci.* 3: 188–195.
- [29] Gattolin S., Newbury J., Bale J., Pritchard J., Barrett D. 2007. Quantitative analyses of amino acids composition in the sap of individual sieve elements of wheat (*Triticum aestivum* L.). Abstracts Comp. Bioch. Physiol. Part A 146: 277–278.
- [30] Girousse C., Bournoville R. 1994. Role of phloem sap quality and exudation characteristics on performance of pea aphid grown on Lucerne genotypes. *Ent. Exp. Appl.* 70: 227–235.
- [31] Hollister B., Mullin C.A. 1998. Behavioral and electrophysiological dose-response relationships in adult western corn rootworm (*Diabrotica virgifera* LeCONTE) for host pollen amino acids. *J. Insect Physiol.* 44: 463–470.
- [32] Kemp H., Pritchard J., Newbury J., Bale J. 2007. Investigating plant-aphid interaction in *Arabidopsis* – the use of functional genomics to investigate the role of plant amino acids transporters. Abstracts Comp. Bioch. Physiol. Part A 146: 271.
- [33] Leszczyński B. 2007. Wykłady z biochemii ogólnej. Wyd. II poprawione. Wydawnictwo Akademii Podlaskiej, Siedlce: 1–401.
- [34] Leszczyński B., Józwiak B., Łukasik I., Matok H., Sempruch C. 1999. Influence of nutrients and water content on host-plants alternation of cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* L. *Aphids and Other Homopterous Insects* 7: 223–230.
- [35] Masclaux C., Valadier M.H., Brugière N., Morot-Gaudry J.F., Hirel B. 2000. Characterization of the sink/source transition in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) shoots in relation to nitrogen management and leaf senescence. *Planta* 211: 510–518.
- [36] Mevi-Schutz J., Erhardt A. 2003. Larval nutrition affects female nectar amino acid preference in the map butterfly (*Araschnia levana*). *Ecology* 84: 2788
- [37] Moran N.A. 2006. Symbiosis. *Cur. Biol.* 16: 866–871.
- [38] Rabbé Y., Wigilio M.C., Fabvay G., Guillard J., Fanti P., Pennacchio F. 2002. Metabolic and symbiotic interactions in amino acid pools of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, parasitized by the braconid *Aphidius ervi*. *J. Insect Physiol.* 48: 507–516.
- [39] Rentsch D., Schmidt S., Tegeder M. 2007. Transporters for uptake and allocation of organic nitrogen compounds in plants. *FEBS Lett.* 581: 2281–2289.
- [40] Sandström J. 1998. Nutritional quality of phloem sap in relation to aphid host plant use. W: Nieto Nafria J.M., Dixon A.F.G. (red.), Aphids in natural managed ecosystems, Leon (Spain): 265–269.
- [41] Sandström J. 2000. Nutritional quality of phloem sap in relation to host plant-alternation in the bird cherry-oat aphid. *Chemoecology* 10: 17–24.
- [42] Sandström J., Moran N. 1999. How nutritionally imbalanced is phloem sap for aphids? *Ent. Exp. Appl.* 91: 203–210.
- [43] Sandström J.P., Telang A., Moran N.A. 2000. Nutritional enhancement of host plant by aphids – a comparison of three aphid species on grasses. *J. Insect Physiol.* 46: 33–40.
- [44] Sempruch C. 2005. Activity of tyrosine decarboxylase in winter triticale attacked by grain aphid (*Sitobion avenae* F.). *Pestycydy* 4: 149–152.
- [45] Sempruch C. 2005. The participation of lysine decarboxylase in interactions between winter triticale and grain aphid (*Sitobion avenae* F.). *Aphids and Other Hemipterous Insects* 11: 163–168.
- [46] Sempruch C., Ciepela A.P. 1998. Free amino acids of winter triticale ears settled by grain aphid. *Aphids and Other Homopterous Insects* 6: 55–62.
- [47] Sempruch C., Ciepela A.P. 2002. Changes in content and amino acid composition of protein of winter triticale selected cultivars caused by grain aphid feeding. *J. Plant Protec. Res.* 1: 37–44.
- [48] Sempruch C., Ciepela A.P. 2004. The content of free protein amino acids in selected species and cultivars of cereals versus density of grain aphid (*Sitobion avenae* F.) population. *Acta Sci. Pol., Ser. Biol.* 3: 61–69.
- [49] Sempruch C., Ciepela A.P., Niraz S. 1993. Zachowanie się bezskrzydłych samic mszycy zbożowej w stosunku do wybranych aminokwasów białkowych. *Zesz. Nauk. WSRP Siedlce, Ser. Nauk. Przyn.* 34: 143–149.
- [50] Sempruch C., Leszczyński B., Wojtaś I. 2008. Activity of arginase within winter triticale seedlings attacked by grain aphid (*Sitobion avenae* F.). *Pestycydy* (w druku).
- [51] Sempruch C., Leszczyński B., Wójcicka A., Kowalczyk E. 2007. Changes in the activity of glutamine synthetase in tissues of winter triticale seedlings caused by *Sitobion avenae* (F.) feeding. *Aphids and Other Hemipterous Insects* 13: 183–190.

- [52] Sempruch C., Wójcicka A., Makosz M., Leszczyński B. 2008. Changes in activity of ornithine decarboxylase in winter triticale caused by grain aphid feeding. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.* 524: 401–409.
- [53] Simpson S.J., Abisgold J.D., Douglas A.E. 1995. Response of the pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*) to variation of dietary levels of sugar and amino acids: the significance of amino acid quality. *J. Insect Physiol.* 41: 71–75.
- [54] Starck Z. 2006. Różnorodne funkcje węgla i azotu w roślinach. *Kosmos* 55: 243–257.
- [55] Starck Z. 2008. Stresy wynikające z nieprawidłowego odżywiania roślin azotem. *Post. Nauk Rol.* 1: 27–42.
- [56] Stern D.L. 2008. Aphids. *Cur. Biol.* 18: R504–R505.
- [57] Theissen U., Martin W. 2006. The difference between organelles and endosymbionts. *Cur. Biol.* 16: 1016–1017.
- [58] Tosh C.R., Powell G., Holmes N.D., Hardie J. 2003. Reproductive response of generalist and specialist aphid morphs with the same genotype to secondary compounds and amino acids. *J. Insect Physiol.* 49: 1173–1182.
- [59] Wilkinson T.L. 1998 The elimination of intercellular microorganism from insects: an analysis of antibiotic-treatment in the pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*). *Comp. Bioch. Physiol.* Part A 119: 871–881.
- [60] Wilkinson T.L., Douglas A.E. 2003. Phloem amino acids and the host plant range of the polyphagous aphid, *Aphis fabae*. *Ent. Exp. Appl.* 106: 103–113.
- [61] Wilkinson T.L., Ishikawa H. 2000. Injection of essential amino acids substitutes for bacterial supply in aposymbiotic pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*). *Ent. Exp. Appl.* 94: 85–91.
- [62] Zografou E.N., Tsiropoulos G.J., Margaritis L.H. 1998. Survival, fecundity and fertility of *Bactrocera oleae*, as affected by amino acid analogues. *Ent. Exp. Appl.* 87: 125–132.

## Participation of the amino acids in host plants–aphids interactions

**Key words:** amino acids, non-protein amino acids, aphids, plant–aphid interactions, nitrogenous nutrients

### Summary

Amino acids are the nutrients for herbivorous insects, and their content establish nutritive value of host plants for aphids, influencing their feeding behaviour, development, fecundity and population density. Changes in amino acid concentration within plant tissues cause host alternation by heteroecious species. Essential amino acids and non-protein amino acids are especially important in plant–aphid interactions. Acceptance of hosts by aphids is dependent on quantity and quality of plant amino acids as well as on proportions between their content and level of other plant metabolites, e.g. sugars and phenols.

Phloem sap, as a main source of food for many piercing-sucking insects including aphids, is characterised by high non-essential to essential amino acids ratio. The obligatory endosymbionts of aphids fit for synthesis of all essential amino acids from nitrogenous compounds dominated within phloem sap.

Aphid attack cause changes in amino acid content within host tissues dependent on species, cultivar and organ of plant and number and duration of the pest feeding. Disturbances in phloem transport and changes in protein level due to hydrolysis and transamination, deamination and decarboxylation of amino acids within tissues of plants settled by aphids, modify the nutritive value as their hosts.



## Wpływ cen zbóż na ceny żywca\*

**Jerzy Rembeza**

*Pracownia Badań Rynkowych, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Boninie,  
76-009 Bonin k. Koszłina  
e-mail: jrembeza@poczta.onet.pl*

**Słowa kluczowe:** ceny, zboża, trzoda chlewna, drób

### Wstęp

Rynki zbóż oraz żywca należą do podstawowych rynków rolnych. Ich funkcjonowanie w istotny sposób wpływa na funkcjonowanie gospodarstw rolnych oraz na poziom cen produktów spożywczych. Ma więc również duże znaczenie dla gospodarstw domowych. Między rynkiem zbóż a rynkami żywca istnieją silne dwustronne powiązania. Z jednej strony sytuacja na rynku zbóż wpływa na uwarunkowania podaży na rynku żywca. Zboża są jedną z podstawowych pasz i surowcem do produkcji pasz, zwłaszcza w żywieniu trzody chlewnej oraz drobiu. Transformację skrobi w mięso w trakcie procesu tuczu najlepiej wyraża powiedzenie, że tucznik to nic innego jak 15–20 buszli kukurydzy [9]. Wzrost cen zbóż skutkuje ujemnym szokiem podażowym na rynku żywca, co powinno wpływać na jego ceny. Zależność ta jednak nie jest bezpośrednia, a zachowanie się cen trzody jest złożonym procesem, zawierającym m.in. trend oraz stochastyczny składnik sezonowy [1]. Przeprowadzone analizy dla rynku północnoamerykańskiego nie wykazywały wpływu cen pasz na podaż trzody [3]. Jednak analizy empiryczne wskazują, że modele predykcji cen trzody uwzględniające dane o opóźnionych cenach pasz pozwalają na uzyskanie dokładniejszych prognoz [1, 6].

Teoretycznie możliwa jest również zależność między cenami zbóż a cenami trzody. Wzrost cen żywca zwiększa podaż na tym rynku, skutkując wzrostem popytu na pasze, co z kolei prowadzić może do wzrostu cen zbóż. Ponieważ jednak ceny zbóż

---

\* Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2007–2009 jako projekt badawczy.

w coraz większym stopniu kształtowane są przez rynek światowy występowanie tego kierunku zależności wymagałoby synchronizacji produkcji w różnych krajach.

Powiązania między cenami trzody chlewnej i zbóż są podstawą analizy tzw. świńskich cykli [7, 11]. Zazwyczaj jednak przedmiotem zainteresowania są relacje cen trzody w stosunku do cen zbóż oraz testowanie istnienia i charakteru cyklu [2, 5, 11]. Stwierdza się różnice między długością cyklu w odniesieniu do cen oraz produkcji i uboju [11]. Analizy przeprowadzone dla rynku polskiego wskazują, że ceny trzody zachowują się w sposób zbliżony jak na rynkach zagranicznych [10].

Związki między cenami drobiu a cenami pasz mają podobne przyczyny jak w przypadku cen trzody. Zasadnicza różnica może wynikać ze znacznie krótszego cyklu produkcyjnego żywca drobiowego. Dlatego o ile reakcje na rynku trzody można liczyć w latach, to na rynku drobiu powinny być liczone w miesiącach. Na przykład w Kanadzie umowy cenowe między producentami a przetwórcami zawierane są z 18 tygodniowym horyzontem czasowym i uwzględniają oczekiwania odnośnie cen pasz [5].

Powiązania między cenami na różnych rynkach mogą mieć charakter krótkookresowy oraz długookresowy. W pierwszym przypadku mamy do czynienia z reakcjami na bieżące lub opóźnione zmiany cen na drugim rynku. W drugim przypadku stwierdza się istnienie długookresowej równowagi między rynkami, a mechanizm reakcji cenowych polega na dochodzeniu do tej równowagi po egzogenicznym szoku cenowym. Można oczekiwać, że mechanizm dostosowań długookresowych lepiej powinien odzwierciedlać naturę powiązań cenowych między rynkiem żywca a rynkiem zbóż. O bieżącej cenie decyduje bowiem, poza popytem, bieżąca podaż, a ta nie zależy od bieżących cen zbóż, lecz jest wynikiem wcześniej podjętych decyzji. Z uwagi na duże różnice długości cyklu produkcyjnego w chowie trzody chlewnej i drobiu można sądzić, że w przypadku cen drobiu bardziej niż w przypadku cen trzody widoczne będą reakcje krótkookresowe.

Celem opracowania jest przedstawienie mechanizmu przenoszenia cen między rynkiem zbóż a rynkami żywca wieprzowego oraz drobiu. Starano się określić czy i w jaki sposób zmiany cen zbóż wpływają na ceny żywca. Założono, że duże różnice długości cyklu chowu powinny wywrzeć wpływ na różnice wrażliwości cen trzody i drobiu. Ponieważ celem opracowania nie było zbudowanie modelu predykcji cen żywca, poza obszarem analiz były inne czynniki kształtujące ceny żywca. W pracy świadomie analizowano ceny zbóż, a nie ceny mieszanek paszowych. Co prawda należy sądzić, że ceny mieszanek powinny silniej niż ceny zbóż wpływać na ceny żywca, zwłaszcza drobiu, jednak rynki zbóż i żywca są jednymi z podstawowych rynków rolnych. Ewentualne zależności między nimi są więc same w sobie interesujące. Również ze względów utylitarnych interesujące jest pytanie czy i w jaki sposób szoki cenowe na rynku zbóż przekładają się na ceny żywca.

W opracowaniu wykorzystano dane o cenach skupu pszenicy, żyta, żywca wieprzowego oraz drobiu za okres styczeń 1996–marzec 2008. Testując mechanizmy krótko- i długookresowych reakcji posłużono się modelami z mechanizmem korekty błędem.



## Metodyka badań

W pracy testowano hipotezę o długookresowym charakterze powiązań między cenami żywca a cenami zbóż. Dlatego konstruując procedurę badawczą starano się przyjąć metodykę umożliwiającą rozróżnienie między krótkookresowymi a długookresowymi dostosowaniami cenowymi. Jednym z często stosowanych w takich analizach modeli jest model z mechanizmem korekty błędem [4]. W pracy wykorzystano model o ogólnej postaci:

$$\Delta P_{A,t} = \alpha_0 + \sum_{i=1}^n \alpha_i \Delta P_{A,t-i} + \sum_{j=0}^m \beta_j \Delta P_{B,t-j} + ECT_{t-1} + e_t \quad (1)$$

gdzie  $P_A$  oraz  $P_B$  to odpowiednio ceny produktów A i B (np. żywca i zbóż), a  $ECT$  to parametr korekty błędem obliczony z tzw. równania kointegrującego. W równaniu powyższym współczynniki  $\alpha_i$  oraz  $\beta_j$  opisują reakcje o charakterze krótkookresowym, a  $ECT$  reakcje o charakterze długookresowym. Parametry  $ECT$  obliczono jako reszty z równania kointegrującego:

$$P_{A,t} = \alpha_0 \beta_1 T + \beta_2 P_{B,t} + e_t \quad (2)$$

gdzie  $T$  jest zmienną czasową. Wprowadzono ją do regresji kointegrującej z uwagi na możliwość zmian w relacjach między cenami żywca i zbóż wynikających m.in. ze zmian w efektywności tuczu. Warunkiem stosowania przedstawionego modelu jest stwierdzenie kointegracji między zmiennymi  $P_A$  i  $P_B$ . Istnienie związków kointegrujących analizowano poprzez testowanie stacjonarności reszt z regresji kointegrującej. W testowaniu stacjonarności reszt posłużono się testem Philipisa-Perrona. W przypadku braku kointegracji z równania (1) należałoby usunąć parametr  $ECT$ .

**Tabela 1.** Stopień integracji poszczególnych zmiennych – wyniki testu Philipisa-Perrona

| Produkt        | I~0           |          | I~1           |          |
|----------------|---------------|----------|---------------|----------|
|                | wartość testu | poziom p | wartość testu | poziom p |
| Pszenica       | 0,4109        | 0,7980   | -7,3121       | 0,0000   |
| Żyto           | 0,7665        | 0,8760   | -7,3236       | 0,0000   |
| Trzoda chlewna | 0,4161        | 0,7993   | -7,6829       | 0,0000   |
| Drób           | 0,7067        | 0,8646   | -18,3468      | 0,0000   |

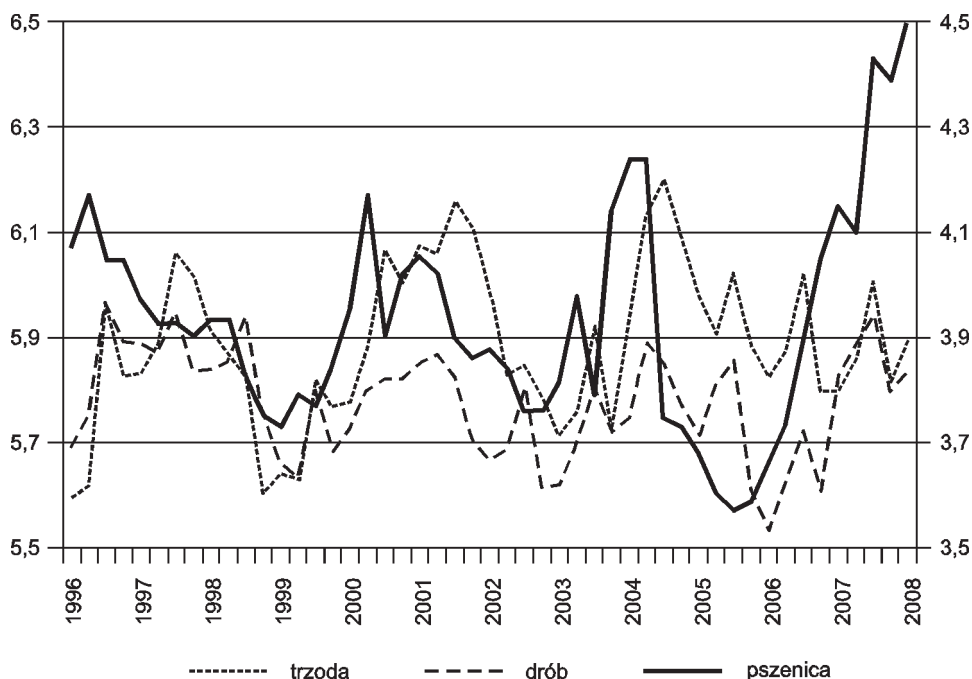
Źródło: obliczenia własne.

Jednym z istotnych elementów metodycznych jest podjęcie decyzji co do postaci zmiennych opisujących ceny. Zmienne te powinny być stacjonarne, co testowano testem Philipisa-Perrona. W przypadku niestacjonarności zmiennych na ich poziomie testowano analogicznym testem stacjonarność pierwszych różnic cen. Stwierdzenie stacjonarności pierwszych różnic cen (I~1) oraz kointegracji uzasadnia użycie modelu (1).

W analizie powiązań cenowych istotny jest wybór interwału notowań cenowych. Zbyt krótkie, ale i zbyt długie interwały mogą utrudnić analizy reakcji cenowych. W przypadku interwałów zbyt krótkich powstaje ryzyko konieczności wprowadzenia zbyt wielu zmiennych do modelu oraz możliwość tłumienia faktycznych reakcji przez wpływ krótkookresowych czynników zakłócających. W przypadku interwałów zbyt długich skróceniu ulega liczba obserwacji i mogą one nie wystarczać do wychwycenia zachodzących reakcji. W pierwszym przypadku narzędzia analizy mogą być zbyt czułe, w drugim niewystarczająco czułe. Na potrzeby niniejszej analizy zdecydowano się przyjąć interwał kwartalny. We wszystkich analizach ceny wyrażano w postaci logarytmów. Wykorzystano notowania GUS dotyczące nominalnych cen skupu za okres styczeń 1995–marzec 2008.

## Wyniki

W latach 1996–2007 poziom cen żywca i zbóż nie uległ większym zmianom (rys. 1). W poszczególnych latach notowano natomiast duże wahania cen. Patrząc na wykres można zauważyć podobieństwo w zachowaniu się cen trzody i drobiu. Również układ szczytów i dołów cenowych na rynku zbóż wykazywał podobieństwo do układu cen trzody. Szczyty cen zbóż wyprzedzały jednak zazwyczaj o kilka kwartałów szczyty cen trzody. Sugeruje to przepływ impulsów cenowych od cen zbóż



**Rysunek 1.** Ceny skupu trzody chlewnej i drobiu (lewa oś –  $\ln(\text{zł} \cdot \text{kg}^{-1})$ ) oraz pszenicy (prawa oś,  $\ln(\text{zł} \cdot \text{dt}^{-1})$ )

do cen żywca. Układ szczytów cenowych potwierdza zarazem występowanie około 4-letniego cyklu świńskiego.

Analizę związków między cenami zbóż a cenami żywca rozpoczęto od testowania stopnia integracji zmiennych. Jak w przypadku większości szeregów cenowych również analizowane w pracy były zintegrowane w stopniu jeden. Stacjonarne były więc pierwsze różnice cen. Stanowi to argument dla analiz opartych na pierwszych różnicach cen, a nie na ich poziomie.

Ponieważ zmienne były niestacjonarne kolejnym krokiem analizy jest ocena czy zmienne są skointegrowane. Stwierdzenie kointegracji oznacza, że między parami cen istnieją związki długookresowe, chociaż w krótkim okresie zależności między nimi mogą być słabo widoczne. W pracy założono, że związek między cenami zbóż i żywca ma przede wszystkim charakter długookresowy. Testy na kointegrację były zgodne z tą hipotezą. W przypadku każdej rozpatrywanej pary zmiennych (trzoda–pszenica, trzoda–żyto, drób–pszenica) stwierdzano istnienie kointegracji (reszty z regresji kointegrującej były stacjonarne). Można więc mówić o istnieniu długookresowej równowagi między cenami żywca, a cenami zbóż. Szoki cenowe na którymś z rynków powinny uruchamiać proces dochodzenia do tej równowagi. Równocześnie istnienie kointegracji uzasadnia analizę przyczynowości w sensie Grangera między parami zmiennych. Analiza ta nie rozstrzyga co prawda czy merytorycznie między parami zmiennych istnieją związki przyczynowe. Określa jedynie czy wprowadzenie informacji o minionych wielkościach jednej zmiennej pozwala lepiej wyjaśniać zachowanie innej zmiennej. Wyniki testów na przyczynowość Grangera zestawiono w tabeli 2. Sugerują one przebieg impulsów cenowych od rynku zbóż do rynku żywca. Taki charakter zależności zgodny jest z przesłankami teoretycznymi. Zmiana cen zbóż powoduje zmianę uwarunkowań podaży na rynku żywca i z opóźnieniem przekłada się na jego ceny. Zmiana cen może co prawda wpływać na wielkość podaży w przyszłości, co przekładało by się na popyt na zboża, a w konsekwencji na ich ceny, jednak mechanizm ten jest znacznie bardziej skomplikowany niż mechanizm powiązań cen żywca z cenami zbóż. Zakłada on silną reakcję podaży żywca na zmiany jego cen, co w rzeczywistości nie musi być obserwowane. Ponadto rynek zbóż ma bardziej międzynarodowy charakter niż ceny żywca. Poziom cen zbóż na rynku krajowym wynika więc w większym stopniu z uwarunkowań rynku międzynarodowego.

**Tabela 2.** Związki między parami zmiennych – wyniki testów na przyczynowość Grangera

| Pary zmiennych*           | Test F  |          | Dominujący kierunek zależności |
|---------------------------|---------|----------|--------------------------------|
|                           | wartość | poziom p |                                |
| Pszenica – trzoda chlewna | 3,3946  | 0,0430   | Psz Trz                        |
| Trzoda chlewna – pszenica | 0,9088  | 0,4108   |                                |
| Pszenica – drób           | 8,4975  | 0,0008   | Psz D                          |
| Drób – pszenica           | 1,0403  | 0,3623   |                                |
| Żyto – trzoda chlewna     | 2,7483  | 0,0756   | Ż Trz                          |
| Trzoda chlewna – żyto     | 0,5226  | 0,5968   |                                |

\* Pierwsza zmienna testowana jako będąca przyczyną.

Źródło: obliczenia własne.

Przeprowadzone analizy wskazują, że ceny żywca i zbóż są zmiennymi zintegrowanymi w stopniu jeden i zarazem skointegrowane ze sobą. Taki charakter zmiennych daje podstawę do użycia modelu z mechanizmem korekty błędem. Analizę przeprowadzono jedynie względem pierwszych różnic cen trzody oraz drobiu, zgodnie z sugestiami wynikającymi z analizy przyczynowości. Parametry poszczególnych modeli przedstawiono w tabeli 3.

**Tabela 3.** Modele transmisji cen między cenami żywca a cenami zbóż

| Parametry | Trzoda–pszenica     | Drób–pszenica       | Trzoda–żyto         |
|-----------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Stała     | 0,0066<br>(0,6896)  | 0,0002<br>(0,9853)  | 0,0066<br>(0,6849)  |
| $P_B(-2)$ |                     | 0,1525<br>(0,0643)  |                     |
| ECT(-1)   | -0,3820<br>(0,0014) | -0,6745<br>(0,0000) | -0,3880<br>(0,0012) |
| $R^2$     | 0,20                | 0,45                | 0,21                |
| Test B-G* | 0,1642              | 0,2811              | 0,1761              |

\* Test na autokorelację reszt Breuscha-Godfrey'a.

Źródło: obliczenia własne.

Uzyskane wyniki potwierdzają hipotezę o słabych krótkookresowych reakcjach cen żywca na zmiany cen zbóż. W żadnym z analizowanych modeli nie stwierdzono istotnego wpływu bieżących i opóźnionych zmian cen zbóż na ceny trzody chlewnej. W przypadku cen drobiu uwidocznili się natomiast wpływ opóźnionych o dwa okresy zmian cen pszenicy. Reakcja ta, choć nie była silna, potwierdza bardziej krótkookresowy charakter procesów dostosowawczych na rynku drobiu, wynikający ze znacznie krótszych cykli produkcyjnych niż w przypadku trzody chlewnej. Nawet jednak w tym przypadku reakcja krótkookresowa była relatywnie słaba.

We wszystkich modelach najistotniejszą zmienną wpływającą na zmiany cen żywca był parametr ECT. Opisuje on dochodzenie do równowagi długookresowej między cenami żywca a cenami zbóż, a samo zaburzenie równowagi spowodowane jest zmianą cen zbóż. Zgodnie z teorią w każdym przypadku parametry ECT były ujemne. Jeżeli więc ceny na rynku zbóż rosną powstała nierównowaga przejawia się zmniejszeniem rozstępu cenowego między rynkami. W reakcji ceny żywca zaczynają stopniowo rosnać, aż przywrócona zostanie długookresowa relacja. Odwrotne procesy zachodzą, gdy ceny zbóż ulegną obniżeniu.

Wielkość parametru ECT opisuje szybkość dochodzenia do długookresowej równowagi cenowej. Im jest on bliższy  $-1$  tym procesy dostosowawcze przebiegają szybciej. Porównanie wyraźnie wskazuje na szybszy przebieg procesów dostosowawczych na rynku drobiu. Na podstawie wielkości parametrów ECT można szacować, że szok cenowy na rynku zbóż praktycznie w pełni przenoszony jest na ceny żywca wieprzowego po około 7 kwartałach. W przypadku cen drobiu okres ten wynosi około 3 kwartały, choć już po upływie jednego kwartału większa część szoku

cenowego na rynku zbóż jest zaabsorbowana przez rynek drobiu. Ponadto zmiany cen zbóż w znacznie mniejszym stopniu tłumaczą zmiany cen trzody chlewnej aniżeli zmiany cen drobiu. O ile zmiany cen zbóż tłumaczyły prawie połowę zmienności cen drobiu, to w przypadku cen trzody tylko jedną piątą.

Jednym z głównych czynników wywołujących szoki cenowe na rynku zbóż są wahania zbiorów w kolejnych latach. W przypadku cen żywca procesy dostosowawcze trwają jednak znacznie dłużej niż okres od jednego zbioru zbóż do drugiego. W konsekwencji szok cenowy, wynikający np. ze spadku zbiorów, byłby przenoszony tylko w części na ceny trzody, gdyby w kolejnym roku nastąpił wzrost zbiorów zbóż. W przypadku cen drobiu możliwe jest natomiast pełne przeniesienie szoku cenowego. Tym między innymi można tłumaczyć stwierdzoną w analizie mniejszą wrażliwość cen trzody na zmiany cen zbóż.

## Podsumowanie

Koszty pasz stanowią jeden z głównych składników kosztów produkcji trzody chlewnej i drobiu, a wahania cen pasz w zasadniczym stopniu wpływają na wahania tych kosztów. Stąd analizując i prognozując sytuację na rynku mięsa, dużą uwagę przywiązuje się do sytuacji na rynku pasz. Dokonując tych analiz przyjmuje się założenie, że zmiany cen zbóż, poprzez zmianę kosztów produkcji, wpłyną na zmianę cen żywca.

Przeprowadzone analizy wskazują jednak, że proces przenoszenia cen zbóż na ceny żywca ma charakter długookresowy. Oznacza to, po pierwsze, że ceny żywca nie reagują lub reagują słabo na bieżące zmiany cen zbóż. Zmiana cen zbóż narusza natomiast długookresową relację cenową i dopiero w wyniku owego naruszenia wywoływana jest reakcja cenowa na rynku żywca, stopniowo przywracająca długookresową relację. Sam proces dochodzenia do równowagi długookresowej jest znacznie szybszy na rynku drobiu niż na rynku trzody chlewnej. Ponadto w przeprowadzonych analizach stwierdzano wyraźnie silniejszy związek cen drobiu niż trzody z cenami zbóż. Budując dwu-trzymiesięczne prognozy cenowe dla rynku trzody chlewnej można w zasadzie pomijać sytuację cenową na rynku zbóż. Dopiero dla dłuższego okresu prognostycznego, powyżej 6 miesięcy ceny zbóż nabierają znaczenia. Inaczej jest w przypadku drobiu, gdzie nawet dla relatywnie krótkich okresów prognostycznych znaczenie cen zbóż jest istotne.

## Literatura

- [1] Adhikari M., Paudel K., Paudel L., Bukenya J. 2007. Modelling swine supply response using a structural time series approach. *Applied Econom. Lett.* 14: 467–472.
- [2] Chavas J.-P., Holt M.T. 1993. On nonlinear dynamics: the case of the pork cycle. *Amer. J. Agr. Econ.* 75(1): 113–120.
- [3] Dixon B.L., Martin L.J. 1982. Forecasting U.S. pork production using a random coefficient model. *Amer. J. Agr. Econ.* 64(3): 530–538.

- 
- [4] Engle R.E., Granger C.W.J. 1987. Cointegration and error correction: representation, estimation, and testing. *Econometrica* 55: 215–276.
- [5] Gervais J.-P., Devadoss S. 2006. Estimating bargaining strength of Canadian chicken producers and processors using a bilaterally monopoly framework. *Agribusiness* 22(2): 159–173.
- [6] Gjolberg O., Bengtsson B.A. 1997. Forecasting quarterly hog prices: simple autoregressive models vs. naïve predictions. *Agribusiness* 13(6): 673–679.
- [7] Harlow A.A. 1960. The hog cycle and the cobweb theorem. *J. Farm Econom.* 42: 842–853.
- [8] Holt M.T., Craig L.A. 2006. Nonlinear dynamics and structural change in the U.S. hog-corn cycle: a time-varying STAR approach. *Amer. J. Agr. Econ.* 88(1): 215–233.
- [9] Liu Q.W. 2005. Price relations among hog, corn and soybean meal futures. *J. Futures Markets* 25(5): 491–514.
- [10] Małkowski J., Zawadzka D. 1995. Wahania produkcji trzody chlewnej a Polsce i innych krajach. Komunikaty, Raporty, Ekspertyzy, 389, IERiGŻ, Warszawa.
- [11] Purcell T. 1999. A note on the pig cycle in Australia revisited. *Agricultural and Natural Resource Economics Discussion Paper Series*, nr 2: 45.

## Linkages between the livestock and cereal grain prices

**Key words:** prices, cereals grain, hog, poultry

### Summary

Paper examined the transmission mechanism between livestock prices and cereal grain prices. Models with error correction mechanism were used in analysis. It was found a long-term integration between livestock prices and grain prices. After price shock on the grain market chicken prices returned to the long-term equilibrium much faster than the hog prices.

## **Wspomnienie o profesorze Stanisławie Moskalu (1921–2008)**



21 września 2008 zmarł w wieku 87 lat prof. dr hab. Stanisław Moskal, emerytowany pracownik Katedry Chemii Rolniczej SGGW. Odszedł od nas człowiek cieszący się ogromnym autorytetem w środowisku akademickim naszej uczelni i kraju, szanowany w gremiach naukowych za ogromną pracowitość, za działalność naukową i społeczną. Był powszechnie lubianym nauczycielem i wychowawcą wielu pokoleń studentów i pracowników naukowych.

---

Profesor S. Moskal urodził się 10 listopada 1921 r. w Krośnie. W 1943 r. ukończył Wyższą Szkołę Rolniczą w Suchodole k. Krosna. Życiorys profesora jest dość typowy dla ludzi, którzy przeszli przez okres wojenny, jako żołnierz Batalionów Chłopskich, a po wyzwoleniu nie szczędząc trudu, mozolnie i ambitnie zdobywał wykształcenie. Bezpośrednio po zakończeniu wojny studiował na Wydziale Rolniczym SGGW w latach 1945–1950. Jeszcze jako student rozpoczął pracę w Katedrze Chemii Rolniczej SGGW (w 1948 r.) i pracy w tej Katedrze poświęcił całe swoje życie zawodowe. W roku 1959 uzyskał stopień doktora nauk rolno-leśnych. W roku 1967 został powołany na stanowisko docenta etatowego, a w roku 1974 został profesorem nadzwyczajnym.

Dorobek naukowy profesora przekracza 100 pozycji publikowanych głównie w czasopiśmie naukowych. Prócz tego był autorem kilkunastu rozdziałów w książkach i podręcznikach akademickich, kilkunastu skryptów akademickich i in. Publikowane przez profesora prace naukowe miały duży ładunek wyników badań, był bowiem profesor pracowity i wymagający w stosunku do wyników swoich badań, czego wymagał również od innych. Tematyka badawcza profesora miała przeważnie charakter nowatorski w kraju i za granicą, co wynikało z jego licznych podróży do ośrodków naukowych wielu krajów.

Już na początku swojej kariery naukowej ukończył kurs stosowania izotopów w biologii, który upoważniał Go do prowadzenia badań z użyciem izotopów promieniotwórczych. Z upoważnienia prof. M. Górskiego brał udział w uruchomieniu pierwszej w Polsce Rolniczej Pracowni Izotopowej PAN (1956), która została zlokalizowana w Katedrze Chemii Rolnej SGGW.

Dla pogłębienia wiedzy z zakresu zastosowania izotopów promieniotwórczych odbył kilka staży w zagranicznych ośrodkach naukowych w Belgii, Holandii, Związku Radzieckim, USA i Anglii.

Ta rozległa aktywność naukowa profesora na arenie międzynarodowej wywierała zapewne duży wpływ na podejmowane przez Niego tematy badawcze. Tematy tych badań, a szczególnie dotyczące fosforu, były również przedmiotem 6 prac doktorskich, których promotorem był prof. S. Moskal. W liczbie tej były 4 doktoraty zagraniczne. Profesor był również promotorem 52 prac magisterskich.

Prof. S. Moskal był i jest dobrze znany i ceniony społecznością akademickiej naszej uczelni. Przez wiele lat pracował społecznie w Związku Nauczycielstwa Polskiego oraz w Stowarzyszeniu Wychowanków SGGW. Szczególnie pracą w Stowarzyszeniu zaskarbił sobie szacunek, godny do naśladowania, któremu można było powierzać coraz bardziej odpowiedzialne funkcje. I tak w latach 1971–1974 był członkiem zarządu, 1974–1977 wiceprzewodniczącym, a w latach 1977–2001 przewodniczącym. W roku 2002 został Prezesem Honorowym tego Stowarzyszenia. Z racji pełnienia tych funkcji wielokrotnie organizował różne uroczystości związane z upamiętnieniem bohaterskich czynów pracowników naszej Uczelni.

Jeszcze większa była społeczna aktywność profesora w różnych organizacjach poza granicami Uczelni. Już w latach 1952–1959 był sekretarzem komisji ds. Stosowania Nawozów Azotowych przy PKPG. Od roku 1969 był przewodniczącym



Zespołu ds. Skażeń Promieniotwórczych, a w latach 1975–1988 przewodniczącym Rolniczej Izotopowej Komisji w Komitecie Agrofizyki PAN. Od 1977 roku był również członkiem Państwowej Rady ds. Wykorzystania Energii Atomowej, a w latach 1984–1989 członkiem Rady ds. Atomistyki. Z racji pełnienia tych funkcji w kraju był również członkiem Europejskiego Stowarzyszenia Zastosowania Izotopów w Rolnictwie. W 1985 z upoważnienia Rolniczej Komisji Izotopowej w Komitecie Agrofizyki PAN oraz SGGW zorganizował w Warszawie XVI Kongres ESNA. W latach 1984–1996 był członkiem Komitetu Ogólnego Międzynarodowego Ośrodka Nawozów sztucznych oraz zespołu ds. fosforu w glebie przy RWPG (1975–1989).

Na szczególne podkreślenie zasługują funkcje lub członkostwo profesora, na które był wybierany przez społeczność naukową kraju. Od roku 1972 wybierany był profesorem do Komitetu Gleboznawstwa i Chemii Rolnej PAN, gdzie w latach 1981–1988 był zastępcą przewodniczącego Komitetu. Od 1983 roku był również członkiem zwyczajnym Towarzystwa Naukowego Warszawskiego i przez 2 kadencje pełnił funkcję Sekretarza Sekcji Nauk Rolniczych.

Najdłużej i najbardziej aktywny był profesor w pracy społecznej dla Polskiego Towarzystwa Gleboznawczego. Już w latach 1961–1964 był sekretarzem Towarzystwa, w latach 1978–1983 członkiem Zarządu, w 1983–1986 wiceprezesem i w latach 1987–1995 prezesem. W roku 1995 został Prezesem Honorowym PTG. Z racji pełnienia tych funkcji przez wiele lat był również członkiem Międzynarodowego Towarzystwa Gleboznawczego. Brał udział w licznych krajowych i zagranicznych kongresach i konferencjach gleboznawczych oraz po zmianach ustrojowych w 1989 roku, jako Prezes, miał znaczący i skuteczny udział w dostosowaniu działalności Towarzystwa do nowych warunków.

Ta rozległa ogólnokrajowa aktywność profesora wskazuje, że był znanym i bardzo cenionym organizatorem działalności naukowej kraju.

Prof. S. Moskal był wielokrotnie odznaczany lub nagradzany. Między innymi był odznaczony Krzyżem Kawalerskim OOP, Złotym Krzyżem Zasługi, Medalem KEN, Medalem M. Oczapowskiego nadawanym przez Wydział Nauk Rolniczych, Leśnych i Weterynaryjnych PAN za wybitne zasługi dla rozwoju nauk rolniczych, medalem „zasłużony dla Uczelni” ART w Olsztynie, Złotą Odznaką za Zasługi dla SGGW, Złotymi Odznakami ZNP i PTG i in. Za badania izotopowe otrzymywał nagrody oraz dyplom (w 1964) Państwowej Rady ds. Pokojowego Wykorzystania Energii Jądrowej. Otrzymywał również nagrody Ministra Nauki, Szkolnictwa Wyższego i Techniki, nagrody sekretarza PAN, nagrody JM Rektora SGGW oraz nagrody Polskiego Towarzystwa Gleboznawczego.

Profesor do końca swoich dni żywo interesował się życiem Uczelni i przekazywał nam mądrość i wiedzę, głównie z dawnych dziejów historycznych chemii rolnej. Pozostanie na zawsze w naszej pamięci, jako wzór do naśladowania. Społeczność akademicka utraciła znakomitego naukowca, społecznika i człowieka wielkiego formatu.

*Prof. Stanisław Mercik*



## **Recenzje i prezentacje**

### **Stanowisko Komitetu Ochrony Roślin Polskiej Akademii Nauk w sprawie zmniejszających się możliwości ochrony upraw rolniczych i ogrodniczych**

Członkowie Komitetu Ochrony Roślin PAN na swym plenarnym posiedzeniu w dniu 15 października br. w Oddziale IOR-PIB w Sośnicowicach omówili aktualne zasady rejestracji środków ochrony roślin w Polsce, uwarunkowania utrudniające realizację ochrony upraw rolniczych i ogrodniczych oraz rozwój integrowanych metod ochrony roślin w świetle dokumentów przygotowanych przez Unię Europejską.

Członkowie Komitetu z dużym niepokojem zwrócili uwagę na pogarszające się możliwości prowadzenia prawidłowej ochrony wielu upraw przed organizmami szkodliwymi.

Już obecnie brak jest środków zalecanych do ochrony niektórych grup roślin (rośliny sadownicze, ozdobne, włókniste, przemysłowe, lecznicze), co w praktyce oznacza brak możliwości ich ochrony przed chorobami i szkodnikami.

Stan ten jest konsekwencją zmniejszającej się liczby dopuszczonych do obrotu i stosowania pestycydów, wynikającej z realizowanego na podstawie Dyrektywy 91/414 EWG ponownego przeglądu wszystkich substancji aktywnych środków stosowanych na terenie Unii Europejskiej i cofnięcie zezwoleń dla ponad połowy stosowanych wcześniej związków. Inną przyczyną jest wynikające z ograniczonego zainteresowania producentów środków ochrony roślin, prowadzeniem badań w uprawach małoobszarowych, ograniczenie zakresu stosowania wielu środków.

Sytuacja ta jest także wynikiem opóźnień w procedurze rejestracji środków ochrony roślin w Polsce i chociaż w ostatnim okresie nastąpiła tu znaczna poprawa, to jednak nadal występują poważne zaległości. Poważnym problemem jest brak środków na badania naukowe zmierzające do opracowania alternatywnych metod ochrony upraw wraz z oceną ich skuteczności i przydatności w ochronie upraw małoobsza-

rowych. Niestety, także i organizacje rolnicze nie wykazują większego zainteresowania współpracą i współfinansowaniem badań dotyczących metod alternatywnych i możliwości rozszerzenia na uprawy małoobszarowe obecnego zakresu stosowania środków ochrony roślin.

Następstwem opisanej sytuacji będą niewątpliwie:

- wysokie straty w plonach i brak ekonomicznego uzasadnienia uprawy niektórych roślin;
- stosowanie środków ochrony roślin niezgodnie z ich etykietą – instrukcją stosowania, a więc niezgodnie z prawem;
- zwiększenie ryzyka powstawania ras odpornych organizmów szkodliwych;
- zakup środków w krajach spoza Unii Europejskiej i ich nielegalne wwożenie do Polski.

Uwzględnienie diskutowanego obecnie w Unii Europejskiej zastąpienia Dyrektywy 91/414 nowym Rozporządzeniem oraz wejście w życie strategii tematycznej „Zrównoważone Stosowanie Pestycydów” bez podjęcia wymaganych działań spowoduje, że przedstawiona sytuacja będzie ulegać dalszemu pogorszeniu.

Mając na uwadze spełnienie norm UE, a przede wszystkim dążąc do zabezpieczenia możliwości prawidłowej ochrony upraw i uzyskania wysokich i dobrych jakościowo plonów, członkowie Komitetu Ochrony Roślin sugerują Panu Ministrowi Rolnictwa i Rozwoju Wsi rozważenie podjęcia następujących działań:

1. Powołanie Zespołu Koordynującego badania w zakresie ochrony upraw małoobszarowych oraz stosowania środków ochrony roślin na małym areale wraz z ustaleniem jednostki sprawującej nadzór nad realizacją tych zadań.
2. Spowodowanie spotkania powołanego Zespołu z przedstawicielami Zrzeszeń Producentów i innych organizacji rolniczych w celu ustalenia listy potrzeb badawczych oraz udziału organizacji rolniczych w finansowaniu tych badań.
3. Wystąpienie do Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego o utworzenie specjalnego grantu na prowadzenie badań w zakresie ustalonym przez powołany Zespół i zaakceptowanym przez Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi.
4. Przyspieszenie procedury rejestracji środków ochrony roślin, dając pierwszeństwo środkom, które są przewidziane do stosowania w uprawach małoobszarowych, a także stworzenie prawnych możliwości uproszczonej procedury rejestracji środków ochrony roślin, które mogą być stosowane w miejsce środków wycofanych.
5. Wystąpienie do Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego o ustalenie grantu na opracowanie alternatywnych metod ochrony roślin.
6. Zwiększenia nakładów na realizację nadzorowanych przez Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi Programów Wieloletnich w zakresie zadań dotyczących zwalczania agrofagów z jednoczesnym uwzględnieniem wysokiego bezpieczeństwa człowieka i środowiska.

Przedstawiając powyższe, Komitet Ochrony Roślin PAN zwraca uprzejmie uwagę na priorytetowe znaczenie ww. zagadnień dla polskiego rolnictwa i potrzebę szybkiego podjęcia działań. W przeciwnym razie, sytuacja będzie ulegała ciągłemu pogarszaniu, prowadząc do znacznych strat w plonowaniu albo do niezgodnego z prawem stosowania środków ochrony roślin, ze wszystkimi tego konsekwencjami.

*Prof. dr hab. Stefan Pruszyński*  
*Przewodniczący KOR PAN*



## Spis treści

|   |     |
|---|-----|
| <b>J. Korzeniowska</b> — Znaczenie cynku w uprawie pszenicy . . . . .   | 3   |
| <b>M. Broda, W. Grajek</b> — Mikroflora ziaren zbóż i metody redukcji skażenia mikrobiologicznego . . . . .   | 19  |
| <b>K. Sobieralski, A. Jasińska</b> — Polówka wiązkowa <i>Agrocybe aegerita</i> – charakterystyka gatunku oraz możliwości uprawy . . . . .                                   | 31  |
| <b>J. Szumigaj, J. Szymański</b> — Identyfikacja, mechanizm działania i zwalczanie bakterii patogenicznych dla pieczarki dwuzarodnikowej <i>Agaricus bisporus</i> . . . . . | 39  |
| <b>Z. Starck</b> — Dystrybucja fotoasymilatów kluczowym procesem determinującym plon . . . . .  | 51  |
| <b>S. Kryczyński</b> — Najważniejsze wirusy i wiroidy chryzantem ze szczególnym uwzględnieniem tego problemu w Polsce . . . . .   | 71  |
| <b>C. Sempruch</b> — Znaczenie aminokwasów w interakcjach mszyce–rośliny żywicielskie . . . . .   | 89  |
| <b>J. Rembeza</b> — Wpływ cen zbóż na ceny żywca . . . . .  | 103 |

### Kronika

Wspomnienie o profesorze Stanisławie Moskalu (1921–2008) — **S. Mercik** . 111

### Recenzje i prezentacje

Stanowisko Komitetu Ochrony Roślin Polskiej Akademii Nauk w sprawie zmniejszających się możliwości ochrony upraw rolniczych i ogrodniczych — **S. Pruszyński** . . . . . 115

## Contents

|   |     |
|---|-----|
| <b>J. Korzeniowska</b> — The role of zinc in wheat cultivation . . . . .  | 3   |
| <b>M. Broda, W. Grajek</b> — Microflora of the cereal grains and methods<br>reducing microbial contamination. . . . .   | 19  |
| <b>K. Sobieralski, A. Jasińska</b> — Black poplar mushroom ( <i>Agrocybe aegerita</i> )<br>– characteristics of the species and cultivation possibilities . . . . .                     | 31  |
| <b>J. Szumigaj, J. Szymański</b> — Identification, destruction mechanism and<br>control of the bacteria pathogenic to cultivated mushrooms <i>Agaricus</i><br><i>bisporus</i> . . . . . | 39  |
| <b>Z. Starck</b> — Distribution of photoassimilates as an important determinant of<br>crop yielding. . . . .  | 51  |
| <b>S. Kryczyński</b> — The most important viruses and viroids of chrysanthemum<br>with special reference to this problem in Poland . . . . .  | 71  |
| <b>C. Sempruch</b> — Participation of the amino acids in host plants–aphids<br>interactions . . . . .   | 89  |
| <b>J. Rembeza</b> — Linkages between the livestock and cereal grain prices . . . . .  | 103 |

### Chronicle

|   |     |
|---|-----|
| In commemoration of Professor Stanisław Moskal — <b>S. Mercik</b> . . . . . | 111 |
|---|-----|

### Book reviews and presentations

|   |     |
|---|-----|
| Attitude of the Committee on Plant Protection, Polish Academy of Sciences,<br>to a question of decreasing possibilities of agricultural and horticultural<br>crop protection — <b>S. Pruszyński</b> . . . . . | 115 |
|---|-----|