

A KUKORICA FUZÁRIUMOS SZÁRTŐKORHADÁSÁVAL SZEMBENI REZISZTENCIAVIZSGÁLAT MÓDSZERTANI ÉRTÉKELÉSE PROVOKÁCIÓS KÍSÉRLETEKBEN

Kovács Blanka^{1} - Pécs Márton¹ - Gergely László¹ - Szőke Csaba²*

¹Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Mezőgazdasági és Genetikai

Erőforrások Igazgatóság Szántóföldi Fajtakísérleti Osztály

² Agrártudományi Kutatóközpont Mezőgazdasági Intézet

*kovacsbl@nebih.gov.hu

Összefoglalás

A kukorica fuzáriumos szártőkorrhada kötelezően vizsgálandó betegségforma az állami fajtaelismerés során. Annak érdekében, hogy évről-évre megfelelő fertőzöttségi körülményeket biztosítsunk a vizsgálatokhoz mesterséges fertőzéses kísérletet állítottunk be 2015-ben és 2019-ben Röjtökmuzsajon és Martonvásáron. Kétféle fertőzési módot vizsgáltunk, talajfertőzést és fogvájós szárfertőzést. Mindkét esetben a *Fusarium verticillioides* és a *Fusarium graminearum* izolátumával fertőztünk 3 különböző fogékonyaságú kukorica genotípust. Eredményeink alapján a kevésbé provokatív talajfertőzéses módszer is alkalmas a genotípusok megkülönböztetésére a fogékonyaság szempontjából. Az izolátumok közül a *Fusarium graminearum* bizonyult patogénebbnek a fogvájós módszer során. A talajfertőzés esetében a *Fusarium verticillioides* nagyobb mértékben fertőzte a közepesen fogékony genotípust, mint a *Fusarium graminearum*. Érdeemes a fertőzést mindkét fajjal elvégezni, hiszen a természetes körülmények között is mindkét faj előfordul.

Kulcsszavak: kukorica, fuzáriumos szártőkorhadás, betegség-provokációs kísérlet mesterséges fertőzési módszerek, fajtaelismerés

Abstract

Fusarium Stalk Rot (FSR) caused by *Fusarium* spp., especially *F. graminearum* and *F. verticillioides* is the No. 1. disease in Hungary. Therefore resistance testing is obligatory in the process of variety registration. In 2015 and 2019 disease-provocation trials were conducted in two locations (Röjtőkmujsaj and Martonvásár) using different methods, soil-inoculation and toothpick-inoculation. Three maize genotypes carrying different level of field resistance were inoculated with Hungarian isolates of *F. graminearum* and *F. verticillioides*. Based on our results, both inoculation techniques are suitable for resistance screening, but we prefer soil-inoculation as a non-invasive way of testing. Of the isolates, *F. graminearum* has shown higher pathogenicity in the toothpick trial. As for soil-inoculation, *F. verticillioides* has caused greater infection on the mid-susceptible genotype, than *F. graminearum*. In the practice of state registration, it is advisable to use both *Fusarium* species in resistance tests because they are prevalent in Hungary.

Keywords: maize, Fusarium Stalk Rot, disease-provocation trial, inoculation methods, variety registration

Bevezetés

A kukoricahibridek fuzáriumos eredetű megbetegedésének rezisztenciavizsgálatára már az 1960-as évek végén figyelmet fordítottak az állami fajtaelismerés során. A bajai Fajtakísérleti Állomáson 1966 óta monokultúrában figyelték meg a kukoricahibrideken a szártőkorhadással szembeni ellenállóságot, fejlesztették a vizsgálati módszertant. Az isaszegi Fajtakísérleti

Állomáson 1969-ben mesterséges fertőzéses kísérletet végeztek csőpenészedéssel szembeni ellenállóság céljából 4 *Fusarium* faj izolátumával (Hinfner és Békési, 1969). A röjtökmuzsaji Fajtakísérleti Állomáson 1959-től monokultúrában van beállítva a kukoricafajtakísérlet. Kezdetben a kísérlet célja a kukorica rostos üszöggel szembeni ellenállóság megfigyelése volt. 1980-tól a fuzáriumos szártőkorhadás és a csőpenészedés megfigyelésének provokációs kísérlete lett.

A szártőkorhadás miatt egyrészt a növény idő előtt elhal, emiatt gyengébb lesz a szentelítődés, ezáltal csökken a csövek mérete és ezerszemtömege is. Az ebből adódó termésnövekedés 6-35 %-tól (Bottalico et al., 1998 és Logrieco et al., 2002) egészen 50-60% is lehet (McKeen, 1951), továbbá a szártőkorhadás okozta szártörés és dőlés, betakarítási veszteséget okoz (Malvick, 1995).

Az állami fajtaelismerés során kizáró tényező, amennyiben egy fajta szártőkorhadásra nagyon fogékony rezisztencia kategóriába vagy ha csőpenészedésre és szártőkorhadásra is közepesnél fogékonyabb kategóriába tartozik a több éves, több termőhelyes vizsgálataink alapján (Ruga-Kovács, 2016).

A kukorica-fajtakísérletek fuzáriumos szártőkorhadás-ellenállóságának adatai a gazdasági értékvizsgálat céljából beállított kísérletekből, illetve monokultúrára alapozott provokációs kísérletekből származnak. A betegség kialakulásában fontos szerepe van az adott év hőmérséklet- és csapadékviszonyainak, a termőhelyi adottságoknak, valamint az agrotechnológiának (Szőke, 2011). A környezeti tényezők közül a szárazság okozta stressz az egyik legnagyobb kockázati tényező, mely növeli a szártőkorhadás kialakulásának a veszélyét (Dodd, 1980). A fajtakísérletekben is azt tapasztaljuk, hogy szárazabb évjáratban több fajtakísérleti állomáson alakul ki nagyobb fertőzési nyomás. Az értékelés során rezisztenciakategóriába való besorolás csak olyan kísérleti helyek alapján történik, amelyeknél legalább 1 hibrid fertőzöttsége elérte a 20 fertőzöttségi db%-ot. Annak érdekében, hogy a 3,

gyakran 2 éves kukorica-fajtavizsgálat során megfelelő fertőzőttségű kísérletből származzon fogékonyági adat, mesterséges fertőzéses kísérleti módszereket vizsgáltunk 2015-ben és 2019-ben.

Anyag és módszer

2015-ben és 2019-ben vizsgáltuk a kukorica fuzáriumos szártőkorhadás mesterséges fertőzéses vizsgálati módszereit Martonvásáron és Röjtökmuzsajon 3 különböző kukorica genotípuson. Mindhárom a FAO 300-as éréscsoportba tartozó kétvonalas hibrid. A fuzáriumos szártőkorhadásra való fogékonyág tekintetében különböztek: egy fogékony, egy közepes fogékonyágú és egy jó ellenállósággal rendelkező genotípuson végeztük a kezeléseket.

Kísérleti elrendezés:

A vizsgálatokat 4 ismétléses, véletlenblokk-elrendezésű kisparcellás kísérletben végeztük. A parcellaméret 4,2 m² volt (1 soros parcellák, 30 db növényel).

Mesterséges fertőzés:

Felhasznált kórokozók: a *Fusarium graminearum* (FG36) és a *Fusarium verticillioides* (FV95) izolátumai.

Fertőző anyag előállítása:

A talajfertőzéshez használt rizsszemeket és a fogvájós fertőzéshez alkalmazott fogvájókat a beoltások előtt sterilizáltuk. A rizsszemeket a felületi (70%-os etanol/ 2 perc, majd 20%-os hypos oldat + Tween 20 detergens/ 20 perc, 3x desztillált vizes öblítés) és belső (60 °C-os, 2x5 min vízfürdő, majd 121 °C-os 20 perc szárazlevegős) sterilizációjukat követően szobahőmérsékleten sterilboxban megszáritottuk. A fogvájókat 12 órát desztillált vízbe áztattuk, majd ezt követően 1200 egységként befőttesüvegbe raktuk és autoklávban 121 °C-on 20 percig sterilizáltuk. A rizsszemeket 2000 ml-es főzőpohárba mértük, majd a fenti izolátumok 10⁶ konidium/ml-re beállított szuszpenziójának 100 ml-nyi mennyiségével

beoltottuk. A sterilizált fogvájók beoltását szintén a fenti izolátumok PDA táptalajon felnevelt tisztatenyészetekből kivágott 5 mm-es korongjaival (1200 db fogvájó/4 db korong) hajtottuk végre. Az így elkészített egységeket 27 °C-on, 21 napig inkubáltuk. A kontrollként használt steril fogvájókat is a fentiek szerint készítettük el, elhagyva a beoltás lépését.

Talajfertőzés

A talajfertőzést mindkét helyen virágzaskor (július első fele) végeztük 2015-ben és 2019-ben is. A talajfertőzés célja, hogy a talajba juttatott fertőző anyaggal úgy fokozzuk a növényekre ható fertőzési nyomást, hogy az alkalmazott provokáció, minél közelebb álljon a természetes fertőzéshez. A 20 cm tőtávolságra vetett tövek közé 10 cm távolságra lefűrtünk 10-20 cm mélyen, amelybe 70 g fertőzött rizsszemet juttattunk ki (Yang et al., 2010).

Fogvájós fertőzés

A fogvájós fertőzést Young (1943) módszerét adaptálva, a talajfertőzést követően 1-2 héttel, a virágzástól számított 10-12. napon végeztük. A kukoricaszár földfelszíntől számított 2-3 internódiumait először alkohollal feltőtlenítettük, majd ezt követően egy steril, 2 mm átmérőjű kézi lyukfúróval lyukat fűrtünk a 2. internódium közepébe, melybe elhelyeztük a kórokozóval benőtt fogvájókat. A felülfertőzés elkerülése érdekében leukoplaszttal lezártuk a szűrt sebeket. Parcellánként 10 növényt fertőztünk. Kontrollként steril fogvájóval is szűrtünk töveket, melyet ugyanúgy lezártunk leukoplaszttal.

Értékelés

Októberben történt a szárok begyűjtése. A talajfelszín felett metszőollóval kivágtuk a fertőzött növényegyedeket, majd 3 internódium hosszúságban a szarát felhasítottuk.

A bélszövet korhadásának mértékét vonalzó segítségével határoztuk meg: milliméterpontosan lemértük a fertőzött lézió hosszát és szélességét. A foltot ellipszisnek értelmeztük és a területét az ellipszisre vonatkozó képlettel $((\text{szélesség}/2) * (\text{hosszúság}/2) * 3,14)$ határoztuk meg.

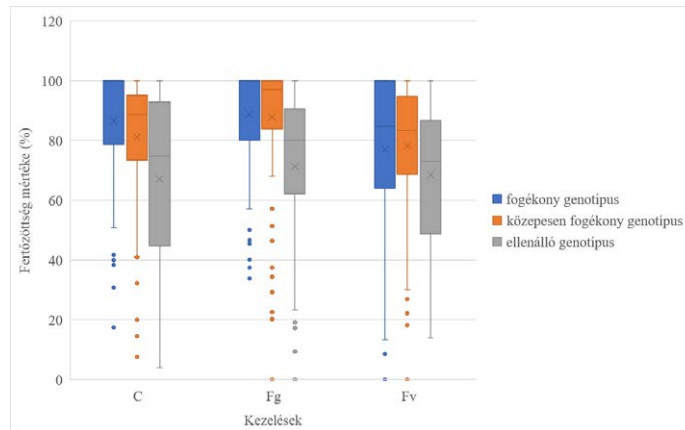
Megmértük továbbá az egész internódium hosszát és szélességét is. A kapott adatok alapján meghatároztuk a teljes terület és az beteg terület egymáshoz viszonyított százalékos arányát.

Alkalmazott statisztikai módszer

Az adatok értékelése során nem paraméteres Kruskal-Wallis próbát és Dunn utótesztet alkalmaztunk Bonferroni korrekcióval SPSS statisztikai programban.

Eredmények

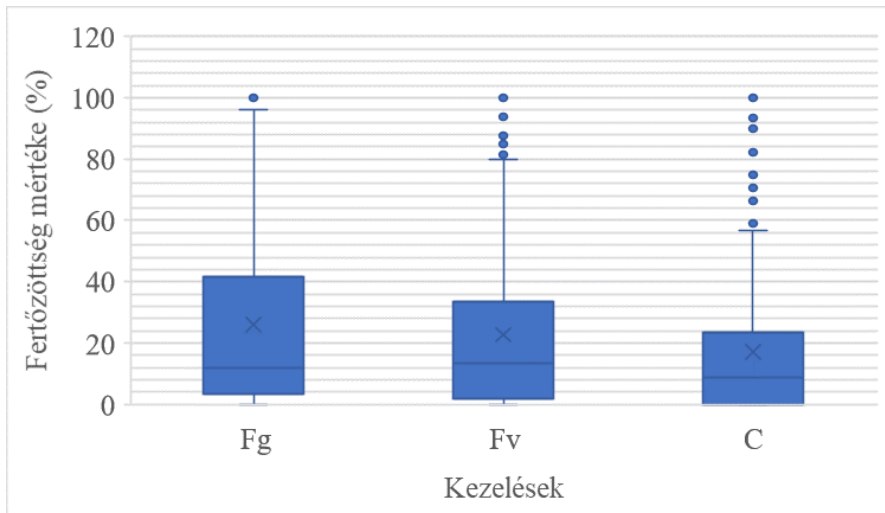
Fogvájós fertőzési módszer fertőzöttségi adatai



1. ábra A fogvájós fertőzés során kialakult fertőzöttség mértéke a felvágott szárak egészséges és beteg rész %-os aránya alapján (C= kontroll, Fg= *Fusarium graminearum*, Fv= *Fusarium verticillioides*) (Röjtőkmuvsaj, Martonvásár 2015 és 2019)

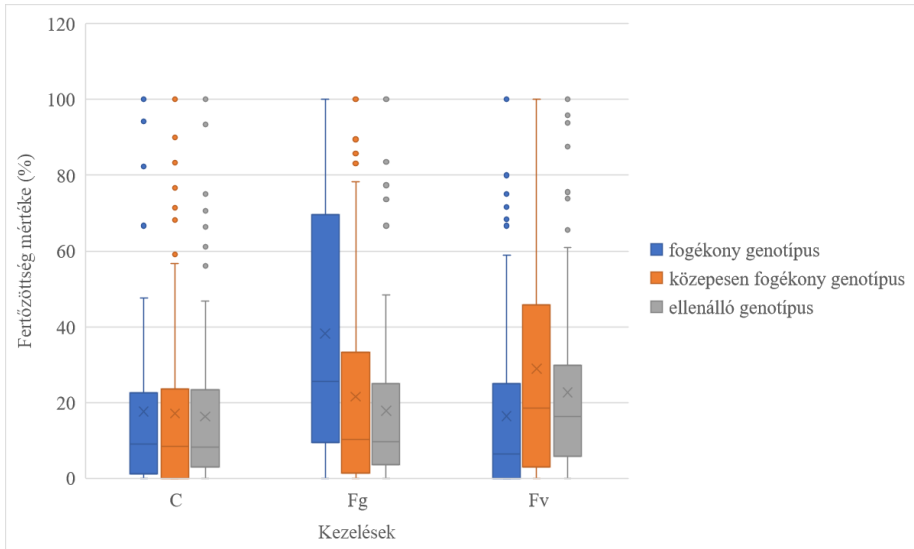
Magas fertőzöttséget okozott a fogvájós módszer a *Fusarium graminearum*, a *Fusarium verticillioides* és a kontrollkezelés esetén (steril fogvájó) is. A legnagyobb mértékben a *Fusarium graminearum* fertőzte a fogékony és a közepesen fogékony genotípust. A közepesen fogékony genotípus esetében is előfordult 100%-ban fertőződött szártó (1. ábra).

Talajfertőzéses módszer fertőzöttségi adatai



2. ábra A talaj-inokuláció okozta fertőzöttségi adatok összehasonlítása a különböző genotípusok átlagában (C= kontroll, Fg= *Fusarium graminearum*, Fv= *Fusarium verticillioides*,) (Röjtökmuzsaj, Martonvásár 2015 és 2019)

Az inokuláció során is a legmagasabb fertőzöttséget a *Fusarium graminearum* okozta, ha a különböző genotípusok fertőzöttségi átlagát értékeltük kezelésként (2. ábra).



3. ábra A talajfertőzés során kialakult fertőzöttség mértéke a felvágott szárak egészséges és beteg rész %-os aránya alapján (C= kontroll, Fg= *Fusarium graminearum*, Fv= *Fusarium verticillioides*,) (Röjtökmuzsaj, Martonvásár 2015 és 2019)

A kezeléseket genotípusonként értékelve, a *Fusarium graminearum* okozta a fogékony genotípus legnagyobb fertőzöttségét. A *Fusarium verticillioides* hatására a közepesen fogékony genotípuson nagyobb mértékű fertőzöttség alakult ki, mint a *Fusarium graminearum* hatására (3. ábra).

Eredmények értékelése

A fogvájós inokulációs módszer fertőzöttségi adatainak értékelése során megállapítható, hogy a fertőzöttségi értékek nagyon magasak voltak (1. ábra). A fogékony genotípus esetében szinte minden tő 80-100% között befertőződött, a közepesen fogékony és az ellenálló genotípus esetében is voltak 80% felett fertőződött tövek. A fertőzöttségi értékek nagysága alapján a genotípusok közötti fogékonyságbeli különbség következetes volt, tehát a legmagasabb

fertőzöttségi értékeket a fogékony, a legalacsonyabbakat az ellenálló genotípus fertőzése eredményezte. A kezelések között volt szignifikáns különbség Kruskal-Wallis próba alapján ($H(2)=25,510$, $P=0,000$). A kezelések páronkénti összehasonlítása Dunn utóteszt alapján megállapítható, hogy a *Fusarium graminearum* okozta fertőzöttség szignifikánsan ($p<0,05$) megkülönböztethető volt a *Fusarium verticillioides* okozta fertőzöttségtől. Nagyobb mértékű fertőzöttséget okozott a *Fusarium graminearum*. Mesterséges csőfertőzéses kísérletek során is a *Fusarium graminearum* erősebb megbetegítőképessége tapasztalható a *Fusarium verticillioides*-hez képest (Mesterházy et al., 2020). A fogvájós mesterséges fertőzés esetében azt tapasztaltuk, hogy a kontrollkezelés következményeként is (sterilfogvájó) nagy mértékű szárfertőzöttség alakult ki. Ennek egyik magyarázata lehet, hogy – ugyan leukoplasztal zártuk a sebzéseket – a szövetroncsolás következményeként a talajban jelenlévő *Fusarium* fajok könnyebben fertőzték a kukoricaszárat a gyökéren keresztül. Mivel a két fuzárium faj közül a *Fusarium verticillioides* fertőzése volt csekélyebb mértékű, mint a kontrollkezelés, azt feltételezhetjük, hogy a felülfertőzést okozó fuzárium faj *Fusarium graminearum* volt.

Az inokuláció adatait vizsgálva, ha a genotípusok fertőzöttségét összevonva értékeljük Kruskal-Wallis próbával (2. ábra), akkor szignifikánsan különböznek a kontrolltól a *Fusarium graminearum* és a *Fusarium verticillioides* kezelések fertőzöttségi adatai is ($H(2)=16,456$, $P=0,000$). Tehát mindkét talajkezelésnek volt provokáló hatása a fertőzöttség kialakulására. A *Fusarium graminearum* fogékony genotípust fertőző kezelése esetén tapasztaltuk a legmagasabb fertőzöttséget. A *Fusarium verticillioides* a kontrollkezeléshez képest nagyobb mértékű fertőzöttséget okozott mindhárom genotípusnál. Azonban ellentmondást tapasztaltunk a genotípusok viselkedésében ennél a kezelésnél, mivel a fogékony kevésbé fertőződött, mint a közepesen fogékony és az ellenálló genotípus. Ha helyenként külön vizsgáltuk az adatokat, akkor is ezt tapasztaltuk.

Össességében megállapítható, hogy a fajtakísérletekben a szártőkorhadás-ellenállóság vizsgálatához szükséges megkülönböztethetőséget biztosíthatjuk talajfertőzéssel provokált mesterséges fertőzéssel. Az értékelés megbízhatósága érdekében előnyös, ha az alkalmazott provokációs módszer nem jár seb ejtésével a növényen.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozunk az Agrártudományi Kutatóközpont Mezőgazdasági Intézetének, hogy lehetőséget biztosított a kísérlet beállítására Martonvásáron, illetve a kivitelezésben nyújtott segítségért.

Irodalom

- Bottalico, A. 1998. Fusarium diseases of cereals: Species complex and related mycotoxin profiles, in Europe. *Journal of Plant Pathology*. **80**. 85-103.
- Dodd, J.L. 1980. The role of plant stresses in development of corn stalk rot. *Plant Disease*. **64**. 533-537.
- Hinfner K. és Békési P. 1969. Kukoricahibridek fuzáriumos eredetű megbetegedésének rezisztenciavizsgálati módszerei. Különlenyomat az 1969. évi Országos Fajtakísérletek című kiadványból 253-267.
- Logrieco, A., Mulè, G., Moretti, A. and Bottalico, A. 2002. Toxigenic Fusarium species and mycotoxins associated with maize ear rot in Europe. *European Journal of Plant Pathology*. **108**. 597–609
- Malvick, D.K. 1995. Corn stalk rots. Department of Crop Sciences, University of Illinois at Urbana-Champaign, *Report on plant disease*. **200**. 1-6

- McKeen, W.E. 1951. A corn root- and stalk-rot complex hitherto known as *Giberella zeae* stalk rot. *Phytopathology*. **41**. 26
- Mesterhazy, A., Toldine Toth, E., Szel, S., Varga, M. and Toth, B 2020. Resistance of Maize Hybrids to *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, and *F. verticillioides* Ear Rots with Toothpick and Silk Channel Inoculation, as Well as Their Toxin Production. *Agronomy*. **10**(9). 1283.
- Ruga-Kovács B. 2016. A kukorica legfontosabb betegségeinek jelentősége a fajtaminősítés tükrében *Agrofórum*. **27**(67). 88-90.
- Szőke Cs. 2011. Kukorica genotípusok fuzáriumos szártőkorhadása és a szár szöveti szerkezete közötti összefüggés-vizsgálatok és hatásuk a szárszilárdságra. Doktori (PhD) értekezés
- Yang, Q, Yin, G, Guo, Y, Zhang, D, Chen S. and Xu, M. 2010. A major QTL for resistance to *Gibberella* stalk rot in maize. *Theor. Appl. Genet.* **121**. 673-687
- Young, H C 1943. The toothpick method of inoculating corn for ear and stalk rots. *Phytopathology*. **33**. 16.