

Impact of applying different nitrogen fertilizers on the level of fumonisins in maize hybrids grain

Wpływ stosowania różnych nawozów azotowych na poziom stężenia fumonizyn w ziarnie różnych odmian mieszańcowych kukurydzy

Piotr Szulc¹, Jan Bocianowski², Agnieszka Waśkiewicz³, Monika Beszterda³

Summary

Fusarium is one of the major fungal genera associated with maize. Among mycotoxins synthesized by *Fusarium* spp. fumonisins are the main of toxicologically and economically important contaminants of maize-based foods and feeds throughout the world. The present study shows the influence of soil supplementation with different forms of nitrogen fertilizers on the level of fumonisins in grain of two different types of corn cultivars. A higher mean level of fumonisins was found in grain of ES Palazzo cultivar in comparison with ES Paroli SG cultivar. The greatest content of fumonisins in grain was observed when no nitrogen fertilization was used, and the lowest when ammonium nitrate and urea with 50% content of each fertilizer in total nitrogen dose were applied.

Key words: maize, kind of nitrogen fertilization, *Fusarium* spp., fumonisins, fertilization, high performance liquid chromatography (HPLC)

Streszczenie

Grzyby rodzaju *Fusarium* należą do najczęściej identyfikowanych patogenów upraw kukurydzy. Spośród mikotoksyn syntetyzowanych przez *Fusarium* spp., fumonizyny należą do najistotniejszych toksykologicznie i ekonomicznie zanieczyszczeń żywności i pasz zawierających komponenty kukurydziane. W niniejszym opracowaniu przedstawiono wpływ suplementacji gleby różnymi formami nawozów azotowych na poziom fumonizyn w ziarnie dwóch różnych typów odmian kukurydzy. Stwierdzono większy średni poziom fumonizyn w ziarnie odmiany ES Palazzo, niż w ziarnie odmiany ES Paroli SG. Największy poziom fumonizyn w ziarnie zaobserwowano przy braku nawożenia azotem, a najmniejszy przy nawożeniu saletrą amonową i mocznikiem z udziałem 50% każdego z nawozów w całkowitej dawce azotu.

Słowa kluczowe: kukurydza, rodzaj nawozu azotowego, *Fusarium* spp., fumonizyny, nawożenie, wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC)

¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Katedra Agronomii
Dojazd 11, 60-623 Poznań
pszulc@up.poznan.pl

² Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Katedra Metod Matematycznych i Statystycznych
Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań
jboc@up.poznan.pl

³ Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Katedra Chemii
Wojska Polskiego 75, 60-625 Poznań
agat@up.poznan.pl; monika.beszterda@up.poznan.pl

Wstęp / Introduction

Kukurydza należy do roślin nasiennych szczególnie podatnych na infekcję grzybami mikroskopowymi rodzaju *Fusarium*, którymi porażenie następuje we wszystkich stadiach rozwojowych rośliny, powodując między innymi zgorzel siewek, fuzaryjną zgniliznę łodyg oraz fuzariozę kolb (Munkvold 2003; Blandino i wsp. 2009). Występowanie patogena u prymitywnych form kukurydzy (teosinte) wskazuje, że relacja pomiędzy tymi organizmami jest wynikiem długotrwałej koewolucji, co może tłumaczyć obserwowaną trwałość troficznych powiązań (Wit i wsp. 2011). Znaczenie grzybów tego rodzaju podkreślane jest także z uwagi na jego endofityczne właściwości, co oznacza, że może on zasiedlać roślinę przerastając ją systemicznie, nie dając przy tym żadnych objawów chorobowych. Toksycznym następstwem rozwoju *Fusarium* spp. jest obecność produktów jego wtórnego metabolizmu, takich jak fumonizyny – związków wykazujących silnie działanie teratogenne oraz neurotoksyczne zarówno u ludzi, jak i zwierząt (Gelineau-van Waes i wsp. 2005; Del Rio Garcia i wsp. 2007; Dilkin i wsp. 2010). Komisja Unii

Europejskiej zawarła w Dzienniku Ustaw z 2006 roku dopuszczalne poziomy fumonizyn w produktach przeznaczonych do żywienia zwierząt oraz ludzi (tab. 1). Dotychczas, najbardziej skutecznym sposobem redukcji strat powodowanych przez fuzariozę wydaje się selekcja kukurydzy w kierunku odmian wykazujących odporność na atak i rozwój patogenów (Wickiel i Ławecki 2009).

Celem badań było określenie wpływu zastosowanego nawozu azotowego na poziom fumonizyn w ziarnie dwóch różnych typów odmian mieszańcowych kukurydzy ES Palazzo oraz ES Paroli SG.

Materiały i metody / Materials and methods

Doświadczenie polowe wykonano w Katedrze Agromonii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, na polach Zakładu Dydaktyczno-Doświadczalnego w Swadzimiu, w latach 2009–2011. Prowadzono je w układzie split-plot z dwoma czynnikami badawczymi, w czterech powtórzeniach polowych. Czynnikiem 1-go rzędu było 6 różnych form nawozów azotowych (tab. 2), czynnikiem 2-go rzędu

Tabela 1. Dopuszczalne poziomy stężeń fumonizyn w produktach spożywczych oraz paszach
Table 1. Acceptable levels of fumonisins in food and feed

Produkt Product	Dopuszczalne poziomy stężeń fumonizyn Acceptable levels of fumonisins [µg/g]
Nieprzetworzona kukurydza Unprocessed maize	4
Kukurydza przeznaczona do bezpośredniego spożycia przez ludzi Maize intended for direct human consumption	1
Materiały paszowe na bazie kukurydzy Feed from maize	60

Tabela 2. Charakterystyka poziomów czynnika 1-go rzędu
Table 2. Characterization of first-order factor levels

Nr No.	Nazwa handlowa nawozu azotowego Trade name of a nitrogen fertilizer	Wzór chemiczny Chemical formula	Zawartość azotu Nitrogen content [%]	Zawartość innych składników Content of other components [%]	Szybkość działania* Velocity of action*
1	bez nawozu no fertilizer				
2	saletra amonowa ammonium nitrate	NH ₄ NO ₃	34	–	+
3	siarczan amonu ammonium sulphate	(NH ₄) ₂ SO ₄	21	24 S	–
4	mocznik urea	CO(NH ₂) ₂	46	–	–
5	saletrzak Canwil nitro-chalk Canwil	NH ₄ NO ₃ + CaCO ₃ + MgCO ₃	27	4 MgO 7 CaO	+
6	saletra amonowa (50% dawki N) + mocznik (50% dawki N) ammonium nitrate (50% of N dose) + urea (50% of N dose)	NH ₄ NO ₃ + CO(NH ₂) ₂	–	–	–/+

*nawóz wolnodziałający – slow-acting fertilizer, + nawóz szybko działający – fast-acting fertilizer

– dwa różne typy odmian kukurydzy: ES Palazzo i ES Paroli SG. Na całym polu doświadczalnym w każdym roku prowadzenia badań przed założeniem doświadczenia stosowano takie samo nawożenie mineralne w ilości: 120 kg N/ha (zgodnie z poziomem czynnika 1-rzędu), 80 kg P₂O₅/ha w formie superfosfatu potrójnego granulowanego i 120 kg K₂O/ha.

Ekstrakcję fumonizyn prowadzono z 25 g nawazek zmielonego materiału roślinnego roztworem metanol:woda (3:1, v/v). Po przefiltrowaniu ekstrakt oczyszczano na kolumnkach Bond Elut firmy Varian a następnie odparowywano do sucha. Po rozpuszczeniu w metanolu toksyny oznaczano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC (high performance liquid chromatography) z wykorzystaniem detekcji fluorescencyjnej.

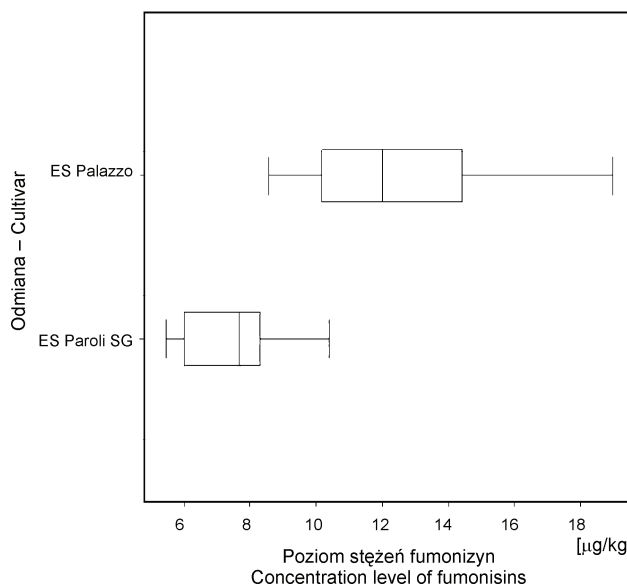
Trójczynnikowa (lata, typ odmiany, rodzaj nawożenia) analiza wariancji (ANOVA) została przeprowadzona w celu zweryfikowania hipotez o braku wpływu lat, typu odmiany, rodzaju nawożenia oraz interakcji lata × typ odmiany, lata × rodzaj nawożenia, typ odmiany × rodzaj nawożenia i lata × typ odmiany × rodzaj nawożenia na poziom fumonizyn w ziarnie. Obliczono wartości najmniejszych istotnych różnic na poziomie $p = 0,05$ i na ich podstawie wyznaczono grupy jednorodne.

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Lata badań oraz interakcje lata × typ odmiany, lata × rodzaj nawożenia oraz lata × typ odmiany × rodzaj nawożenia nie miały istotnego statystycznie wpływu na poziom fumonizyn w ziarnie stąd dalsze analizy przeprowadzono na wartościach średnich trzyletnich. Zdecydowanie ($p < 0,001$) większy średni poziom stężenia fumonizyn zaobserwowano w ziarnie odmiany ES Palazzo (12,72 µg/g) niż w ziarnie odmiany ES Paroli SG (7,43 µg/g) (tab. 3). Ponadto ES Paroli typu „stay-green” była odmianą stabilniejszą pod względem obserwowanej cechy (rys. 1). Według Mahalakshmi i Bidinger (2002), odmiany reprezentujące typ „stay-green” są bardziej tolerancyjne na warunki stresowe, np. suszę, w których to

rośliny, w większym stopniu podatne są na działanie czynników chorobotwórczych. Tym też należy tłumaczyć większą zdrowotność takich odmian. Uzyskany wynik w badaniach własnych koresponduje z wcześniejszymi wynikami autora (Szulc 2011), w których to odmiana typu „stay-green” była również istotnie mniej porażona przez patogeny rodzaju *Fusarium* oraz głównie kukurydzy, w porównaniu do odmiany tradycyjnej.

Rodzaj nawozu azotowego był również czynnikiem mającym istotny statystycznie wpływ na wartości obserwowanej cechy ($p = 0,028$). Największy poziom fumonizyn w ziarnie zaobserwowano przy braku nawożenia azotem (12,48 µg/g), a najmniejszy przy nawożeniu NH₄NO₃ + CO(NH₂)₂ (7,78 µg/g). Wartości obserwowanej



Rys. 1. Rozkład poziomu fumonizyn [µg/g] w ziarnie ze względu na typ odmiany kukurydzy

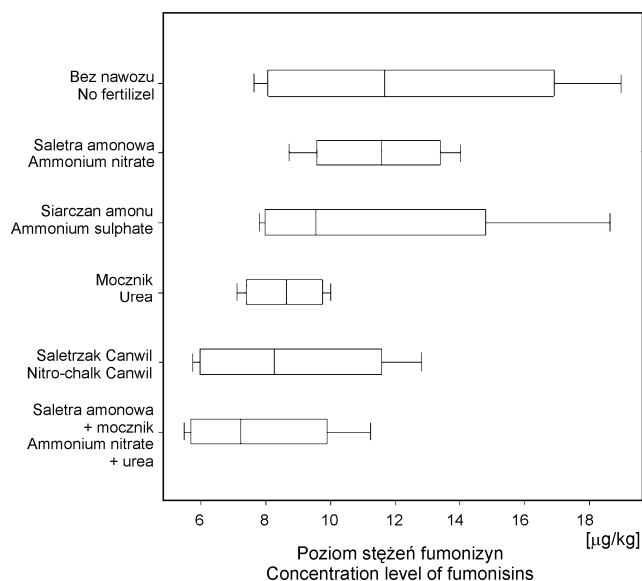
Fig. 1. Distribution of the level of fumonisins [µg/g] in grain depending on the type of corn cultivar

Tabela 3. Wartości średnie (± odchylenia standardowe) poziomu fumonizyn [µg/g] w ziarnie dwóch odmian kukurydzy po zastosowaniu pięciu rodzajów nawożenia oraz bez nawożenia

Table 3. Mean values (± standard deviations) of the level of fumonisins [µg/g] in grain of two corn cultivars after using five types of nitrogen fertilizers and without nitrogen

Rodzaj nawozu azotowego Type of nitrogen fertilizer	Odmiana – Cultivar		Średnia – Mean
	ES Palazzo	ES Paroli SG	
Bez nawozu – No fertilizer	16,90 a ±2,93	8,06 de ±0,64	12,48 A ±5,39
NH ₄ NO ₃	13,39 abc ±0,88	9,57 cde ±1,20	11,48 AB ±2,37
(NH ₄) ₂ SO ₄	14,80 ab ±5,43	7,96 de ±0,22	11,38 AB ±5,05
CO(NH ₂) ₂	9,75 cde ±0,33	7,41 de ±0,43	8,58 BC ±1,39
NH ₄ NO ₃ + CaCO ₃ + MgCO ₃	11,59 bcd ±1,75	5,95 e ±0,30	8,77 BC ±3,41
NH ₄ NO ₃ + CO(NH ₂) ₂	9,90 cde ±1,88	5,67 e ±0,26	7,78 C ±2,68
Średnia – Mean	12,72 X ±3,39	7,43 Y ±1,46	

Wartości średnie oznaczone tymi samymi literami o tej samej wielkości nie różnią się istotnie statystycznie na poziomie $p = 0,05$
Mean values denoted by the same letters of the same size are not statistically significantly different at the level of $p = 0.05$



Rys. 2. Rozkład poziomu fumonizyn [µg/g] w ziarnie, sklasyfikowany ze względu na rodzaj zastosowanego nawozu azotowego

Fig. 2. Distribution of the level of fumonisins [µg/g] in grain, classified depending on the type of used fertilizer

cechy otrzymane przy nawożeniu $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{CaCO}_3 + \text{MgCO}_3$ (8,77 µg/g) i $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ (8,58 µg/g) nie były istotnie różne w porównaniu z nawożeniem $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{CO}(\text{NH}_2)_2$ (tab. 3). Brak zastosowania nawożenia azotem skutkowało tym, że otrzymane poszczególne wartości charakteryzowały się dużą zmiennością (rys. 2).

Wnioski / Conclusions

1. Odmiana ES Paroli SG jest zdecydowanie bardziej odporna na kumulowanie fumonizyn, niż odmiana tradycyjna ES Palazzo. Objawia się to mniejszym średnim poziomem fumonizyn zgromadzonym w ziarnie mieszańca typu „stay-green” (7,43 µg/g).
2. Największy poziom fumonizyn w ziarnie zaobserwowano przy braku nawożenia azotem, a najmniejszy przy nawożeniu saletrą amonową i mocznikiem z udziałem 50% każdego z nawozów w całkowitej dawce azotu.

Literatura / References

- Blandino M., Reyneri A., Vanara F., Tamietti G., Pietri A. 2009. Influence of agricultural practises on *Fusarium* infection, fumonisin and deoxynivalenol contamination of maize kernels. *World Mycotoxin J.* 2 (4): 409–418.
- Del Rio Garcia J.C., Moreno Ramos C., Pinton P., Mendoza Elvira S., Oswald I.P. 2007. Evaluation of the cytotoxicity of aflatoxin and fumonisin in swine intestinal cells. *Rev. Iberoam. Micol.* 24: 136–141.
- Dilkin P., Direito G., Simas M.M.S., Mallmann C.A., Correa B. 2010. Toxicokinetics and toxicological effects of single oral dose of fumonisin B₁ containing *Fusarium verticillioides* culture material in weaned piglets. *Chemico-Biological Interactions* 185: 157–162.
- Gelineau-van Waes J.B., Starr L., Maddox J.R., Aleman F., Voss K.A., Wilberding J., Riley R.T. 2005. Maternal fumonisin exposure and risk for neural tube defects: mechanisms in an *in vivo* mouse model. *Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.* 73: 487–497.
- Mahalakshmi V., Bidinger F.R. 2002. Evaluation of stay green sorghum germplasm lines at ICRISAT. *Crop Sci.* 42: 965–974.
- Munkvold G.P. 2003. Cultural and genetic approaches to managing mycotoxins in maize. *Annu. Rev. Phytopathol.* 41: 99–116.
- Szulc P. 2011. Różnica w stopniu porażenia roślin przez choroby dwóch typów odmian kukurydzy w zależności od poziomu zasobności gleby w azot. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 51 (2): 810–813.
- Wickiel G., Ławecki T. 2009. Występowanie fuzariozy kolb kukurydzy (*Fusarium* spp.) oraz zawartość mikotoksyn w ziarnie kukurydzy chronionej zabiegiem fungicydowym. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 49 (4): 1770–1773.
- Wit M., Waśkiewicz A., Ochodzki P., Warzecha R., Jabłońska E., Goliński P., Kachlicki P., Chełkowski J., Wakuliński W. 2011. *Fusarium verticillioides* jako przyczyna fuzariozy kolb kukurydzy. s. 19–20. W: Materiały XVIII Konferencji Krajowej „Grzyby mikroskopowe i ich metabolity”. Instytut Genetyki Roślin PAN, Poznań, 6–7 kwietnia 2011, 40 ss.