

**SPEKTRUM DRUHOV RODU *FUSARIUM* IZOLOVANÝCH ZO PŠENICE SLOVENSKEHO PÔVODU V SEZÓNE 2008**  
**SPECIES SPECTRUM OF THE GENUS *FUSARIUM* ISOLATED FROM SLOVAK WHEAT IN SEASON 2008**

*Zuzana Mašková, Dana Tančinová, Roman Labuda, Zuzana Barboráková, Mária Dovičičová*

**ABSTRACT**

The aim of this study was to analyze endogenous and superficial mycobiota of wheat, harvested in the 2008 season from several localities of Slovakia, with focus on the genus *Fusarium*. Direct method of storing sterilized wheat grains on agar plates with DRBC (dichloran rose bengal chloramphenicol agar) and DCPA (dichloran chloramphenicol peptone agar) was used for determination of endogenous mycobiota and plate dilution method on DRBC and MEA (malt extract agar) was used for determination of superficial mycobiota. Twenty out of the total 21 samples of wheat grains were found to be positive for isolates of the genus *Fusarium*. The spectrum consisted of 15 species: *F. acuminatum*, *F. avenaceum*, *F. graminearum*, *F. crookwellense*, *F. culmorum*, *F. langsethiae*, *F. oxysporum*, *F. poae*, *F. proliferatum*, *F. sambucinum*, *F. semitectum*, *F. subglutinans*, *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum* and *F. vericillioides*. The highest frequency of incidence pertained to *F. poae* (76.2 %), *F. avenaceum* (66.7 %), *F. graminearum* (47.7 %) and *F. sporotrichioides* (47.7 %). The highest relative density within the genus *Fusarium* was represented by the species *F. poae* (in 6 samples), *F. culmorum* (in 2 samples), *F. avenaceum* (in 1 sample) and *F. graminearum* (in 1 sample).

---

**ÚVOD**

Anamorfný rod *Fusarium* zahŕňa viac ako 80 uznaných druhov (Leslie et Summerell, 2006) a je jedným z najdôležitejších rodov, ktoré súvisia s mykológiou obilnín (Mubatanhema et al., 1999). V podmienkach strednej Európy sa fuzariózy vyskytujú každoročne na 70 % porastov obilnín. Hospodársky významné napadnutia a straty na úrode sa vyskytujú približne každý tretí rok (Wakulinski, 1990), pričom vyššie výskyty sú zaznamenané predovšetkým vo vlhších oblastiach alebo v rokoch s daždivým počasím (Vaňová et al., 2000).

Rod *Fusarium* je bohatý zdroj širokej palety bioaktívnych sekundárnych metabolitov, trichotecénov, zearalenónov a fumonizínov a v posledných rokoch vstúpili do pozornosti i mnohé ďalšie dôležité mykotoxíny, ako sú moniliformín, enniatíny, beauvericín a fusaproliferín (Sorensen, 2009).

Cieľom tejto práce bolo zmapovať druhové spektrum rodu *Fusarium* na pšenici slovenského pôvodu, a tak odhadnúť potenciálnu kontamináciu pšeničných zŕn ich toxickými metabolitmi.

**MATERIÁL A METODIKA**

V pokusnom roku 2008 bolo sledované zloženie povrchovej a endogénnej mykocenózy pšenice so zameraním na rod *Fusarium*. Analyzované vzorky (21) boli odobraté zo 7 krajov Slovenska (Tabuľka 1).

**Tabuľka 1** Kraje a lokality odberu pšenice v sezóne 2008 (v zátvorkách sú uvedené počty vzoriek)

Kraj	Lokality
Banskobystrický (3)*	Banská Bystrica (1), Lučenec (1), Závada (1)
Košický (3)	Smižany (3)
Nitriansky (2)	Kolárovo (1), Sokolce (1)
Prešovský (3)	Poprad-Matejovce (1), Prešov (1), Spišské Bystré (1)
Trenčiansky (5)	Beluša (5)
Trnavský (3)	Trnava (3)
Žilinský (2)	Podtúreň (1), Turčianske Teplice (1)

\* v zátvorkách sú uvedené počty vzoriek

Na stanovenie povrchovej mykocenózy bola použitá platňová zriedňovacia metóda. Reprezentatívna vzorka s navážkou 20 g bola pridaná do 180 cm<sup>3</sup> peptónovej vody obsahujúcej 0,02 % Tweenu<sup>®</sup> 80 (Fluka Chemie AG, Švajčiarsko). Po následnom trepaní na horizontálnej trepačke po dobu 30 minút boli pripravené ďalšie riedenia 10<sup>-2</sup> až 10<sup>-3</sup>. Riedenia 10<sup>-1</sup> až 10<sup>-3</sup> (0,1 ml) boli naočkované na agarové platne DRBC (agar s dichlóranom, bengálskou červeňou a chloramfenikolom; Merck KGaA, Nemecko) a MEA (sladinový agar; Biomark<sup>™</sup> laboratories, India) v trojnásobnom opakovaní a kultivované v tme počas 5 – 7 dní pri teplote 25 ± 1 °C .

Na zistenie endogénnej mykocenózy bola aplikovaná metóda priameho ukladania povrchovo vysterilizovaných pšeničných zŕn na agarové platne. Použité boli len nepoškodené zrná bez viditeľných známkov napadnutia mikroskopickými hubami. Na sterilizáciu bol použitý 0,4 % roztok NaOCl, zvyšok sterilizačného roztoku bol odstránený trojnásobným opláchnutím v sterilnej destilovanej vode (Samson et al., 2002). Po povrchovej sterilizácii bolo z každej vzorky uložených 100 zŕn na agarové platne DRBC a DCPA (agar s dichlóranom, chloramfenikolom a peptónom) (Burgess et al., 1988), ktoré boli následne kultivované za rovnakých podmienok ako pri povrchovej mykocenóze.

Pre štúdium morfológických a kultivačných znakov rodu *Fusarium* bolo nevyhnutné získať čisté kultúry jednotlivých kmeňov. Proces izolácie bol prevedený preočkovaním na SNA (Synthetischer Nährstoffarmer agar, syntetický agar) (Nirenberg, 1976) a PDA (zemiakovodextrózový agar) (Samson et al., 2002), čisté kmene boli kultivované pri izbovej teplote pri prirodzenom rozptýlenom svetle. Identifikácia rodu *Fusarium* bola vykonaná podľa Burgess et al. (1988), Samson et al. (2002), Leslie a Summerell (2006).

Frekvencia výskytu (Fr) a relatívna denzita (RD) rodov a druhov bola vypočítaná podľa nasledovných vzorcov (González et al., 1996):

$$\text{Fr (\%)} = \left( \frac{\text{ns}}{\text{N}} \right) \cdot 100 \qquad \text{RD (\%)} = \left( \frac{\text{ni}}{\text{Ni}} \right) \cdot 100$$

kde ns = počet vzoriek, v ktorých bol rod alebo druh detegovaný; N = celkový počet vzoriek; ni = počet izolátov rodu alebo druhu; Ni = celkový počet detegovaných izolátov.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Získané výsledky predloženej štúdie poukazujú na vysokú frekvenciu výskytu izolátov rodu *Fusarium* na pšenici slovenského pôvodu zberanej v sezóne 2008. Na ich prítomnosť bolo pozitívnych celkom 20 z 21 vzoriek pšenice (95,24 %). Vyššia frekvencia výskytu bola potvrdená v endogénnej mykocenóze, kde na živných médiách DRBC i DCPA vykazovala 85,71 %, (18 pozitívnych vzoriek). Z povrchovej mykocenózy boli zástupcovia tohto rodu izolovaní na DRBC i MEA s frekvenciou 57,14 % (12 pozitívnych vzoriek).

Na základe druhovej identifikácie izolovaných kmeňov bolo zaznamenaných celkom 15 druhov (*F. acuminatum*, *F. avenaceum*, *F. graminearum*, *F. crookwellense*, *F. culmorum*, *F. langsethiae*, *F. oxysporum*, *F. poae*, *F. proliferatum*, *F. sambucinum*, *F. semitectum*, *F. subglutinans*, *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum*, *F. vericillioides*). Izoláty, ktoré z dôvodu kontaminácie nebolo možné bližšie identifikovať, boli označené ako *Fusarium* sp.. Celková frekvencia výskytu jednotlivých druhov na zrnách pšenice slovenského pôvodu je uvedená v Tabuľke 2. a poukazuje na najčastejší výskyt druhov *F. poae* (76,2 %), *F. avenaceum* (66,7 %), *F. graminearum* (47,7 %) a *F. sporotrichioides* (47,7 %). Pre porovnanie bol v minulosti na Slovensku najčastejšie izolovaný druh *F. culmorum*, nasledovali *F. graminearum*, *F. avenaceum*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme* a *Microdochium nivale* (Šrobárová-Vašková, 1987). Hudec (2006) však uvádza, že súčasné druhové spektrum fuzárií na obilninách je podobné, len sa zmenila ich dominancia: *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae* a *Microdochium nivale*. Individuálna frekvencia výskytu je samozrejme ovplyvnená environmentálnymi faktormi, ako sú vlhkosť, teplota, pôdny typ, pôdna textúra, či predchádzajúca plodina, ako uvádza Duben (1978). Podobne ako v našich výsledkoch, aj Logrieco et al. (2002) uvádza *F. poae* ako dominantný druh izolovaný zo pšenice v Anglicku, Walese a v Poľsku. *F. poae* má geograficky široké rozloženie a často sa vyskytuje spolu s kmeňmi *F. sporotrichioides* (Weidenbörner, 2001).

Relatívna denzita druhov v rámci rodu *Fusarium* (Tabuľka 3) bola v jednotlivých vzorkách pomerne variabilná. Výraznú denzitu (> 50 %) preukazovali druhy *F. poae* (50,5 – 100,0 %) v 6 vzorkách, *F. culmorum* (75,4 %, 78,6 %) v 2 vzorkách, *F. avenaceum* (100,0 %) v 1 vzorke a *F. graminearum* (61,8 %) tiež v 1 vzorke. Ostatné druhy preukazovali relatívnu denzitu nižšiu ako 50 %. Vysoká početnosť izolátov vo vzorkách pšenice predstavuje reálne riziko kontaminácie príslušnými mykotoxínmi. Kmene *F. poae* sú známe hlavne ako producenti širokého spektra trichotecénov (Desjardins, 2006; Weidenbörner, 2001). Uvádza sa, že *F. culmorum* produkuje podobný profil mykotoxínov a iných biologicky aktívnych metabolitov ako *F. crookwellense* a *F. graminearum*, čo predstavujú hlavne trichotecény, zearalenón, kulmorín, moniliformín a iné (Thrane, 1989; Thrane 2001; Weidenbörner, 2001). Na odhad rizika sú potrebné ďalšie štúdie druhu *F. culmorum* na produkciu deoxynivalenolu, nivalenolu a zearalenonu (Desjardins, 2006). Hoci *F. avenaceum* nie je producentom trichotecénov a fumonizínov, je dôležitý hlavne ako producent moniliformínu, beauvericínu a enniatínov. *F. graminearum* je naopak silným producentom trichotecénov, predovšetkým deoxynivalenolu, ale aj iných biologicky aktívnych látok (Sorensen, 2009; Desjardins, 2006).

V 3 vzorkách z Trenčianskeho kraja boli detegované kmene *Gibberella zeae*, ktoré sú teleomorfným štádiom druhu *F. graminearum*. Pastirčák (2005) uvádza častý výskyt tejto mikromycéty na nadzemných vegetatívnych a reprodukčných orgánoch (steblo, klas, zrna) obilnín a kukurice. Tento druh je schopný produkovať toxické metabolity, najmä mykotoxín deoxynivalenol (Miller et al., 2002).

**Tabuľka 2** Frekvencia výskytu druhov rodu *Fusarium* izolovaných z povrchovej a endogénnej mykocenózy pšeničných zŕn slovenského pôvodu (21 vzoriek), zberaných v sezóne 2008

Druh	Počet pozitívnych vzoriek	Frekvencia výskytu (%)
<i>F. acuminatum</i>	2	9,5
<i>F. avenaceum</i>	14	<b>66,7</b>
<i>F. graminearum</i>	10	<b>47,6</b>
<i>F. crookwellense</i>	3	14,3
<i>F. culmorum</i>	5	23,8
<i>F. langsethiae</i>	2	9,5
<i>F. oxysporum</i>	7	33,3
<i>F. poae</i>	16	<b>76,2</b>
<i>F. proliferatum</i>	3	14,3
<i>F. sambucinum</i>	7	33,3
<i>F. semitectum</i>	6	28,6
<i>F. subglutinans</i>	2	9,5
<i>F. sporotrichioides</i>	10	<b>47,6</b>
<i>F. tricinctum</i>	7	33,3
<i>F. verticillioides</i>	1	4,8
<i>F. sp.</i>	5	23,8

## ZÁVER

Predložená štúdia potvrdila relatívne široké spektrum druhov rodu *Fusarium*, ktoré sú súčasťou mykocenózy pšeničného zrna pochádzajúceho z rôznych lokalít Slovenskej republiky. Celkom 15 druhov tohto rodu a pomerne vysoká relatívna denzita niektorých z nich dáva predpoklad možnej kontaminácie zŕn príslušnými mykotoxínmi. Najväčšie riziko predstavujú trichotecény, zearalenón, moniliformín, beauvercín a enniatíny, ktorých producenti boli hojne zastúpení.

## LITERATÚRA

- BURGESS, L. W., LIDDEL, C. M., SUMMERELL, B. A. 1988. Laboratory manual for *Fusarium* research. Sydney : University of Sydney, 1988. 156 s.
- DESJARDINS, A. E. 2006. *Fusarium Mycotoxins. Chemistry, Genetics, and Biology*. Minnesota : APS Press, 2006. 260 p. ISBN 0-89054-335-6.
- DUBEN, J. 1978. Untersuchungen zum Fußkrankheitskomplex an Winterweizen unter besonderer Berücksichtigung von Arten der Gattung *Fusarium* Lk. Dissertation. In Nirenberg, H. I. 1981. A simplified method for identifying *Fusarium* spp. occurring on wheat. In *National Research Council of Canada*, p. 1599 – 1609.
- GONZÁLES, H. H. L., PACIN, A., RESNIK, S. L., MARTÍNEZ, E. J., 1996. Deoxynivalenol and contamination mycoflora in freshly harvested Argentinean wheat in 1993. In *Mycopathologia*, 135, 1996, 2, p. 129-134.
- HUDEC, K. 2006. Vplyv lokality a ročníka na výskyt húb z rodu *Fusarium* při fuzarióze klasov a bázy stebiel pšenice. In *Polnohospodárstvo*, 52, 2006, 6, s. 69-76.
- LESLIE, J. F., SUMMERELL, B. A. 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Australia : Blackwell Publishing, 2006. 388 p. ISBN 978-0-8138-1919-8.

- LOGRIECO, A., MULÈ, G., MORETTI, A., BOTTALICO, A. 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with maize ear rot in Europe. In *European Journal of Plant Pathology*, 108, 2002, p. 597-609.
- MILLER, J. D., APSIMON, J. W. BLACKWELL, B. A., GREENHALGH, R., TAYLOR, A. 2002. Deoxynivalenol: A 5 year perspective on a trichothecene of agricultural importance. In Summerell, B. A. , Leslie, J. F., Backhouse, D. Bryden, W. L., Burgess, L. W. 2002. *Fusarium*, Paul E. Nelson Memorial Symposium. St Paul (Minnesota) : APS Press, 2002. p. 310 – 320.
- MUBATANHEMA, W., MOSS, M. O., FRANK, M. J., WILSON, D. M. 1999. Prevalence of *Fusarium* species of the *Liseola* section on Zimbabwean corn and their ability to produce the mycotoxins zearalenone, moniliformin and fumonizin B<sub>1</sub>. In *Mycopathologia*, 148, 1999, p. 157-163.
- NIRENBERG, H. I. 1976. Untersuchungen über die morphologische und biologische Differenzierung in der *Fusarium* – Sektion *Liseola*. In *Mitteilungen Biol. Bundesanst. Land – Forstwirtsch. Berlin – Dahlem*, 169, 1976, s. 1-117.
- PASTIRČÁK, M. 2005. Výskyt druhu *Gibberella zeae* (Ascomycota, Hypocreales, Nectriaceae) na Slovensku. In *Bulletin Slovenskej Botanickéj spoločnosti*, 27, 2005, s. 31-35.
- SAMSON, R. A., HOEKSTRA, E. S., FRISVAD, J. C., FILTENBORG, O. 2002. *Introduction to food- and airborne fungi*. Utrecht : Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2002. 389 p. ISBN 90-70351-42-0.
- SORENSEN, J. L. 2009. *Preharvest fungi and their mycotoxins in maize* : Ph.D. Thesis. Lyngby : Center for Microbial Biotechnology, 2009. ISBN 978-87-91494-68-0.
- ŠROBÁROVÁ, A., VAŠKOVÁ, M. 1987. *Fusarium* spp. associated with scab of wheat in Slovakia. In *Sborník ÚVTIZ – Ochrana rastlin*, 23, 1987, p. 279-284.
- THRANE, U. 1989. *Fusarium* species and their specific profiles of secondary metabolites. In Desjardins, A. E. 2006. *Fusarium Mycotoxins. Chemistry, Genetics, and Biology*. Minnesota : APS Press, 2006. 260 p. ISBN 0-89054-335-6.
- THRANE, U. 2001. Developments in the taxonomy of *Fusarium* species based on secondary metabolites. In Desjardins, A. E. 2006. *Fusarium Mycotoxins. Chemistry, Genetics, and Biology*. Minnesota : APS Press, 2006. 260 p. ISBN 0-89054-335-6.
- VAŇOVÁ, M., TVARŮŽEK, L., HRABALOVÁ, M. 2000. Fuzáriá v klasoch ozimnej pšenice a ochrana proti nim. In *Obilnárske listy*, 8, 2000, 5, s. 109.
- WAKULINSKI, W. 1990. Phytotoxicity of the secondary metabolites of fungi causing wheat head fusariosis (head blight). In *Acta Physiologiae Plantarum*, 11, 1990, p. 301-306.
- WEIDENBÖRNER, M. 2001. *Encyclopedia of Food Mycotoxins*. Gießen : Springer, 2001. 294 p. ISBN 3-540-67556-6.

### Pod'akovanie

Práca vznikla s finančnou podporou projektov GA SPU 739/05330, VEGA 1/0404/09 a KEGA 3/5080/07.

### Kontaktné adresy:

Ing. Zuzana Mašková, Katedra mikrobiológie, FBP, SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, tel.: 037/641 4432, e-mail: [zuzana.maskova@uniag.sk](mailto:zuzana.maskova@uniag.sk)

doc. Ing. Dana Tančinová, PhD., Katedra mikrobiológie, FBP, SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, tel.: 037/641 4433, e-mail: [dana.tancinova@uniag.sk](mailto:dana.tancinova@uniag.sk)

Ing. Roman Labuda, PhD., Romer Labs Division Holding GmbH, Technopark 1, 3430 Tulln, Austria, tel: +43 2272 615 33 216, e-mail: [roman.labuda@romerlabs.com](mailto:roman.labuda@romerlabs.com)

Tabuľka 3 Relatívna denzita (%) druhov v rámci rodu *Fusarium* vo vzorkách pšenice slovenského pôvodu zberanej v sezóne 2008

Kraj	ZA		BB			KE			PO			TT			NR		TN				
Číslo vzorky	19	30	6	26	36	14	15	16	17	18	5	2	3	4	1	13	7	8	9	10	11
<i>F. acuminatum</i>		2,9							8,3												
<i>F. avenaceum</i>		10,3	4,0			16,7	40,0	<b>100,0</b>	16,7	33,3	33,3					3,2	1,4	32,0	7,7	1,4	12,5
<i>F. graminearum</i>		<b>61,8</b>		15,8		16,7	20,0						14,3				2,9	16,0	15,4	1,4	37,5
<i>F. crookwellense</i>			4,0						8,3						3,7						
<i>F. culmorum</i>					50,0											3,2	<b>78,6</b>	16,0		<b>75,4</b>	
<i>F. langsethiae</i>				5,3													1,4				
<i>F. oxysporum</i>		1,5	12,0	5,3	50,0				16,7	8,3							1,4				
<i>F. poae</i>		4,4	<b>76,0</b>	10,5		33,3	20,0			16,7	25,0	40,0	<b>57,1</b>	<b>100,0</b>	<b>59,3</b>	<b>83,9</b>	4,3		46,2	18,8	<b>50,5</b>
<i>F. proliferatum</i>												20,0			14,8				7,7		
<i>F. sambucinum</i>		10,3				16,7			16,7				14,3				1,4	8,0		0,7	
<i>F. semitectum</i>		5,9														6,5	1,4				
<i>F. subglutinans</i>															11,1		2,9				
<i>F. sporotrichioides</i>		1,5		31,6			10,0		8,3	16,7		20,0					2,9	28,0	23,1	2,2	
<i>F. tricinctum</i>		1,5		31,6		16,7	10,0			25,0					11,1	3,2					
<i>F. verticillioides</i>												20,0									
<i>F. sp.</i>			4,0						25,0		41,7		14,3				1,4				
<b>Počet izolátov</b>	<b>0</b>	<b>68</b>	<b>25</b>	<b>19</b>	<b>2</b>	<b>6</b>	<b>10</b>	<b>1</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>3</b>	<b>27</b>	<b>31</b>	<b>70</b>	<b>25</b>	<b>13</b>	<b>138</b>	<b>8</b>

ZA = Žilinský kraj, BB = Banskobystrický kraj, KE = Košický kraj, PO = Prešovský kraj, TT = Trnavský kraj, NR = Nitriansky kraj, TN = Trenčiansky kraj