

Valentina Španić¹, G. Drezner¹, K. Dvojković¹, Sonja Marić², Jasenka Čosić²

Znanstveni rad

Procjena količine deoksinivalenola (DON-a) u genotipovima pšenice

Sažetak

Mikotoksini (mykes - grč. gljiva, toksikon - grč. otrov) su sekundarni metaboliti kemijski vrlo različite strukture s različitim biološkim učincima. Ovisno o *Fusarium* vrsti, na zrnima se mogu očekivati mikotoksini: zearalenol, deoksinivalenol (*F. graminearum*), T-2 toksin, neosolaniol, scirpenol (*F. avenaceum*), T-2 toksin, HT-2 toksin, tetraol (*F. poae*). Cilj je ovoga rada prikazati varijabilnost genotipova pšenice kod procijenjenih količina DON-a, a na temelju simptoma bolesti ocijenjenih na 22. dan nakon umjetnih infekcija. Najmanje procijenjene količine DON-a izračunate su kod genotipova Renan (0,8 mg/kg), Soissons (1,0 mg/kg), Sirban Prolifik (1,3 mg/kg) i Libellula (1,5 mg/kg), a najveće kod genotipova Osk.553/98 (7,5 mg/kg), Osk.554/97 (7,1 mg/kg), Žitarka (6,4 mg/kg), i Zlatna Dolina (5,8 mg/kg).

Glavne riječi: mikotoksini, procijenjena količina DON-a, pšenica

Uvod

Mikotoksini (mykes - grč. gljiva, toksikon - grč. otrov) su sekundarni metaboliti kemijski vrlo različite strukture s različitim biološkim učincima. Mogu biti vrlo toksični u malim količinama, kancerogeni, gentoksični, toksični za jetru, bubrege ili imunološki sustav. Većina mikotoksina kemijski je stabilna i pri izloženosti visokim temperaturama (npr. pečenje kruha). Najčešće su spominjani mikotoksini: aflatoksini, okratoksini, trihoteceni, fumonizini, patulin i zearalenon. Na žitaricama (pšenica, ječam, kukuruz, zob, riža) i soji gljivice roda *Fusarium* najčešće proizvode trihotecene. Trihoteceni imaju citotičku aktivnost (inhibiraju sintezu proteina, utječu na DNA i RNA sintezu, inhibiraju mitohondrijske funkcije, utječu na stanične membrane i stanične diobe te na apoptozu) te mogu imati imunosupresorski efekt, koji reducira otpornost i na kraju dovodi do različitih mikrobnih infekcija. Najučestaliji *Fusarium* mikotoksini u Europi su deoksinivalenol (DON) i zearalenon proizvedeni od vrsti *Fusarium graminearum* i *F. culmorum*. Na području od centralnih prema sjevernim europskim zemljama pronađen je moniliformin, kao posljedica rasprostranjenosti vrste *F. avenaceum*. Hollins i sur., (2002.) navode najvažnije trihotecene koji su identificirani te smatraju da se najviše proučavaju tip A (T-2 toksin, Ht-2 toksin i dr.) i tip B (NIV, DON i njihovi derivati 3-ADON i 15-ADON). Unutar Europe patogeni koji izazivaju fuzarijsku palež klasa (FHB) pšenice proizvode DON i NIV. Ovisno o *Fusarium* vrsti na zrnima se mogu očekivati mikotoksini: DON, nivalenol (NIV), zearalenone (ZEN) (*F. graminearum* i *F. culmo-*

¹ Valentina Španić, dr. sc.; Georg Drezner, dr. sc.; Krešimir Dvojković, dr. sc.; Poljoprivredni institut Osijek, Južno predgrađe 17, 31 103 Osijek

² Sonja Marić, dr. sc.; Jasenka Čosić, dr. sc.; Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, Trg Svetog Trojstva 3, 31 000 Osijek

rum), diacetoksiscirpenol (DAS) (*F. equiseti*), T-2 toksin (*F. sporotrichioides*), HT-2 toksin (*F. sporotrichioides* and *F. acuminatum*) (Bottalico and Perrone, 2002).

Akumulacija DON-a u zrnima ovisi o otpornosti genotipa, kemotipu i agresivnosti Fusarium izolata te okolinskim čimbenicima (temperatura i vlaga) tijekom razvoja bolesti, smatra Del Ponte, (2007.). Da bi zaštitile potrošače od mikotoksina, mnoge zemlje, uključujući i članice EU-a, odredile su maksimalne dopuštene granice za sadržaj DON-a u žitaricama i proizvodima od žitarica (Buerstmayr i sur., 2009.). Prema EU regulaciji maksimalno dopušteni sadržaj DON-a u pšeničnom integralnom kruhu je 1,25 ppm, u kruhu i pecivima 0,5 ppm i u dječjoj hrani 0,2 ppm. U SAD-u 1993. godine određena je gornja granica za količine DON-a u gotovim pšeničnim proizvodima od 1 ppm (<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/graingui.html>). U Kanadi je dopuštena količina DON-a u mekim pšenicama 2 ppm, a u dječjoj hrani 1 ppm (http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/securit/chem-chim/contaminants-guidelines directives_e.htm).

Cilj je ovoga rada prikazati varijabilnost genotipova pšenice pri procijenjenim količinama DON-a, a na temelju simptoma bolesti ocijenjenih na 22 dan nakon provedenih umjetnih infekcija.

Materijal i metode rada

Izabrana su 24 genotipa pšenice koji su bili zastupljeni u proizvodnji u Republici Hrvatskoj od 1905. godine do danas. 20 genotipova potječe iz Hrvatske, od kojih je 17 s Poljoprivrednog instituta Osijek (Srpanjka, Žitarka, Osk.553/98, Osk.554/97, Janica, Lucija, Alka, Lela, Pipi, Katarina, Renata, Aida, Seka, Felix, U1, Tena, Osječanka), a tri genotipa (Zlatna Dolina, Divana, Sirban Prolifik) potječu iz drugih oplemenjivačkih kuća. Genotipovi Soissons i Renan potječu iz Francuske, a genotip Libellula iz Italije.

Eksperimentalni pokus postavljen je u listopadu 2008. godine na pokušalištu Poljoprivrednog instituta Osijek (45°32'N, 18°44'E), na 94 m nadmorske visine. Tip tla je eutrični kambisol. Osnovna gnojdba sastojala se iz 50 kg/ha Uree (46% N) te 300 kg/ha NPK 7:20:30. Sjeme je tretirano fungicidom Vitavax (3 ml/kg). Pokus je prihranjen s 130 kg/ha KAN-a (27% N) u veljači te s 200 kg/ha KAN-a (27% N) u travnju. U ožujku je obavljeno tretiranje herbicidom Tena (triasulfuron 0,75%; klortoluron 79%) u količini 1,5 kg/ha, a u svibnju herbicidom Granstar (tribenuron-metil 750+/-30 g/kg) u količini od 22 g/ha. U travnju je korišten insekticid Karate protiv insekta *Lema melanopa* (Lambda cihalotrin 50 g/l) u količini od 0,10 l/ha. Prosječna temperatura vegetacijske sezone 2008./09. iznosila je 10,76°C, uz ukupnu količinu oborina od 367,8 mm. Dužina parcele iznosila je 7 m, a širina 1,08 m. Pokus je postavljen kao kompletni randomizirani blok u četiri repeticije. Inokulacije su obavljene leđnom prskalicom od 07. do 18. svibnja, 2009. individualno za svaki genotip u vrijeme kada se 50% cvjetova nalazilo u fenofazi cvatnje.

Na lokaciji Osijek 22. dana nakon učinjenih inokulacija izolatom *F. culmorum* vizualno

je promatrano područje unutar parcele i ocijenjeno pomoću linearne skale od 0 (nema zaraze) do 100 (100% zaraženost) kako je prikazano u Tablici 1.

Tablica 1. Prikaz načina ocjenjivanja zaraze u polju za ukupnu otpornost

Table 1. Preview mode of assessment of infection in the field for general resistance

%	
25	4 zaražena klasića/1 klas
33	6-7 zaraženih klasića/1 klas
50	10 zaražeih klasića/1 klas
66	12-13 zaraženih klasića/1 klas
75	15 zaraženih klasića/1 klas
95	Gotovo svi klasići zaraženi
100	Potpuno zaraženo

Proizvodnja inokuluma

Mješavina zrna pšenice i zobi (3:1) ostavljena je preko noći u vodi, nakon čega je smjesa autoklavirana na 121°C u trajanju od 20 minuta. Kada se ohladilo, zrna su inokulirana konidijama *F. culmorum*. Bočice su ostavljene na difuznom danjem svjetlu, na sobnoj temperaturi, u trajanju od dva tjedna uz povremenu trešnju, sve dok se na zrnima nije pojavilo smeđe-narančasto obojenje. Bočice su smještene još 4 tjedna u hladnjak na -4°C. Zatim su bočice napunjene s deioniziranom vodom i podešavanje konidija po ml učinjeno je pomoću hemocitometra, pri čemu je koncentracija podignuta na 100 000 konidija/ml. Tu su metodu opisali Snijders i Van Eeuwijk, (1991.).

Pojednostavljena metoda za predviđanje količina DON-a

Vizualno je ocijenjen intezitet bolesti u poljskim pokusima za procjenu vrijednosti DON-a prema formuli koju je naveo Chelkowski, (1989.):

$$\text{DONap} = \frac{P \times 10}{100} \quad \text{mg/kg}$$

DONap - procijenjena količina DON-a; P - prosječan postotak zaraženih klasova

Rezultati rada i rasprava

Mesterhazy i sur., (1999.) zaključuju da se oplemenjivanje na fuzarijsku palež klasa treba usmjeriti na vizualne simptome jer su infekcija zrna i gubici u prinosu u korelaciji s kontaminacijom DON-om.

U ovom istraživanju pomoću prosječnog postotka zaraženih klasova izračunate su procijenjene količine DON-a. Otporniji genotipovi imali su manje od 10% zaraženih klasića (Renan), dok su osjetljivi genotipovi imali više od 70% zaraženih klasića (Osk.553/98) (Tablica 2).

Tablica 2. Zaraza (%) na 22. dan nakon inokulacije u Osijeku u 2009.**Table 2.** Infection (%) at 22 day after inoculation in Osijek in 2009

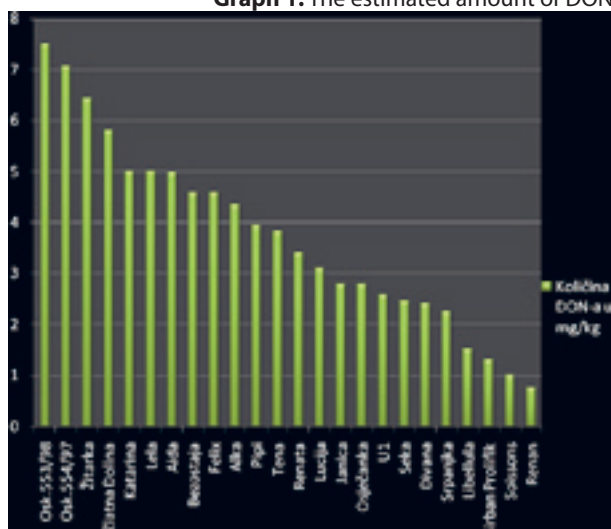
Genotip	Osijek-2009.
Osk.553/98	75,0
Osk.554/97	70,5
Žitarka	64,3
Zlatna Dolina	58,0
Katarina	50,0
Lela	50,0
Aida	49,8
Bezostaja	45,8
Felix	45,8
Alka	43,5
Pipi	39,3
Tena	38,3
Renata	34,0
Lucija	31,0
Janica	27,8
Osječanka	27,8
U1	25,8
Seka	24,5
Divana	24,0
Srpanjka	22,5
Libellula	15,0
Sirban Prolifik	13,0
Soissons	10,0
Renan	7,5

Najmanje procijenjene količine DON-a izračunate su kod genotipova Renan (0,8 mg/kg), Soissons (1,0 mg/kg), Sirban Prolifik (1,3 mg/kg) i Libellula (1,5 mg/kg), a najveće kod genotipova Osk.553/98 (7,5 mg/kg), Osk.554/97 (7,1 mg/kg), Žitarka (6,4 mg/kg) i Zlatna Dolina (5,8 mg/kg) (Graf 1).

Zaključak

Utvrđena je varijabilnost među genotipovima pšenice s obzirom na procijenjene količine DON-a, koje su se temeljem postotka zaraženih klasova umjetnom infekcijom kretale od 0,8 do 7,5 mg/kg.

Graf 1. Procijenjena količina DON-a
Graph 1. The estimated amount of DON



Takve procjene moguće je izvršiti samo u usjevima kod kojih je izvršena umjetna infekcija.

Literatura

Bottalico, A. and Perrone, G. (2002.): Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *European J of Plant Pathology* 108:611-624

Buerstmayr, H., Ban, T., Anderson, JA (2009.): QTL mapping and marker-assisted selection for *Fusarium* head blight resistance in wheat: a review. *Plant Breeding* 128: 1-26.

Chelkowsky, J. (1989.): Formation of mycotoxins produced by *Fusaria* in heads of wheat, triticale and rye. In: *Fusarium, Mycotoxins, Taxonomy and Pathogenicity*. Elsevier. Chapter 4:63-85.

Del Ponte, E.M., Fernandes, J.M.C., Bergstrom, G.C. (2007.): Influence of Growth Stage on *Fusarium* Head Blight and Deoxynivalenol Production in Wheat. *Phytopathology* 155:577-581.

Hollins, T.W., Ruckebauer, P., De Jong, H. (2002.): Progress towards wheat varieties with resistance to *Fusarium* head blight. *Food Control* 14:239-244.

Mesterhazy, A., Bartok, T., Mirocha, G., Komoroczy, R. (1999.): Nature of wheat resistance to *Fusarium* head blight and the role of deoxynivalenol for breeding. *Plant Breeding* 118:97-110.

Snijders, C.H.A., Van Eeuwijk, F.A. (1991.): Genotype X strain interactions for resistance to *Fusarium* head blight caused by *Fusarium culmorum* in winter wheat. *Theor Appl Genet* 81:239-244.

Scientific study

Estimated quantity of deoxynivalenol (DON) in wheat genotypes

Summary

Mycotoxins are secondary metabolites of very different chemical structure with different biological effects. Depending on the Fusarium species in grains we can expect mycotoxins: zearalenol, deoxynivalenol (F. graminearum), T-2 toxin, neosolaniol, scirpenol (F. avenaceum), T-2 toxin, HT-2 toxin, tetraol (F. poae). The aim of this paper is to present the variability of wheat genotypes with an estimated amount of DON based on symptoms of disease assessed at 22nd day after artificial infections. The lowest estimated amounts of DON in genotypes were calculated for Renan (0.8 mg/kg), Soissons (1.0 mg/kg), Sirban Prolific (1.3 mg/kg) and Libellula (1.5 mg/kg), and the highest in Osk.553/98 (7.5 mg/kg), Osk.554/97 (7.1 mg/kg), Žitarka (6.4 mg/kg) and Zlatna Dolina (5.8 mg/kg).

Key words: mycotoxins, estimated quantity of DON, wheat

NAŠICE
Flora

N.Markovac, Cvjetna 43
TEL: 031/ 69 90 41
www.flora.hr



svim poslovnim partnerima sretan
Božić i Nova 2011. godina

proizvodnja
travnog busena

