

Др Нада Протић¹
Др Раде Протић²
Др Снежана Јанковић³
Добривоје Поштић⁴ дипл.инж

UDC: 632.4:633.11

УТИЦАЈ МИКОТОКСИНА НА КЛИЈАВОСТ И МАСУ 1000 ЗРНА ОЗИМЕ ПШЕНИЦЕ*

Кратак садржај: Испитиване су три сорте озиме пшенице различито осетљиве на *Fusarium spp.*, а широко коришћене у производњи и преради: ПКБ-Лепокласа, Југославија и Француска. На овим сортама примењена су три третмана: веиштакча инокулација изолатима *Fusarium spp.*, заштита пшенице фунгицидом на бази активних материја flutriajafol+karbendazim (85 + 135g/L) и праћене су спонтане инфекције у различитим фенофазама развоја пшенице. Контролна је била иста сорта, са истог локалитета, необухваћена огледима. Огледи су трајали три године. Фитопатолошка оцена извршена је два пута у току вегетације. Сорта Југославија имала је у просеку 85% инфицираних биљака, Француска 65%, а ПКБ-Лепокласа је у све три године имала 100% инфекцију гљивама *Fusarium spp.* Присуство гљива изазвало је смањену клијавост, јер микотоксини инхибирају синтезу протеина. Развој гљива на биљкама пшенице довео је до увенућа зрна због оштећења спроводног система. Гљиве из рода *Fusarium spp.* изазивају продукцију многих микотоксина а утврђено је присуство трихотецена типа B-deoxynivalenola, зеараленона и фумонизина.

Кључне речи: фузариозе, микотоксини, пшеница, клијавост, маса 1000 зрна.

* Оригиналан научни рад

¹ Научни сарадник, ЕКО-ЛАБ ДОО за управљање квалитетом, П. Скела - Београд

² Научни саветник, Институт за заштиту биља и животну средину, Београд

³ Научни сарадник, Институт за заштиту биља и животну средину, Београд

⁴ Истраживач сарадник, Институт за заштиту биља и животну средину, Београд

Резултати овог рада саставни су део пројекта “Унапређење производње и семенарства стрних жита”, које финансира Министарство за науку и животну средину Републике Србије.

Увод

Повећање броја становника намеће потребу повећања производње хране и њено очување што бољим складиштењем, чиме би се обезбедила хигијенски исправна и здравствено безбеднија храна. По подацима ФАО, процењено је да петину губитака произведене хране проузрокују инсекти, микроорганизми и друге штеточине, а смањивањем ових губитака, смањивао би се проблем глади у свету.

Микотоксини су секундарни метаболити гљива, са негативним ефектом на здравље људи и животиња.

Пшеница може бити инфицирана гљивама *Fusarium spp* у пољу, као и за време складиштења. Најважнији *Fusarium* токсини, који се често јављају у значајним концентрацијама у цереалијама су фумонизини, зеараленон и трихотецени (deoksinivalenol, nivalenol и T₂). У новије време, Радна група за канцерогени ризик уврстила је токсине *Fusarium moniliforme* (укључујући и фумонизине) као могућ карциноген за људе, групе 2Б.

За подручје наше земље, у смислу географског положаја и климатских карактеристика, најзначајнији микотоксини, пореклом од гљива *Fusarium spp*, су зеараленон и деоксиниваленол, а за фумонизине присутне на пшеници, у нашој земљи нема података, а у свету су ови микотоксини везани углавном за кукуруз.

Материјал и метод рада

За испитивање микотоксина у зрнима пшенице и производима од пшенице коришћене су три сорте озиме пшенице (Југославија, Француска и ПКБ-Лепокласа). На овим сортама примењена су три третмана, од којих је први заштита усева фунгицидом на бази активних материја flutrijafol+karbendazim (85+135g/L). Други третман је вештачка инокулација изолатима гљива *Fusarium spp* у фази цветања пшенице. Трећи третман је праћење спонтане инфекције. Као контрола послужиле су исте сорте пшенице, са истог локалитета, без третирања.

Огледи су изведени у пољским условима. План огледа постављен је по блок систему распореда парцела у четири

понављања, величина парцеле 5 m² (1 x 5) са размаком од 20 cm између редова. Густина сетве била је 600 зрна/m².

Микотоксиколошка испитивања извршена су у узорцима зрна пшенице. Одређивани су следећи микотоксини: зеараленон, фумонизини и деоксиниваленол. Зеараленон и деоксиниваленол одређени су ХПЛЦ техником по методи АОАЦ. Фумонизини су одређени модификованом ХПЛЦ флуориметријском методом, тј. имуноафинитетном колонском хроматографијом на флуориметру Vicam, Watertown, MA (Scott et al, 1995, Ware et al, 1994).

Добијени резултати приказани су као трогодишњи просек.

Резултати истраживања и дискусија

Добијени резултати показују да је *Fusarium graminearum* доминантна врста на испитиваним сортама. *Fusarium moniliforme* и *Fusarium proliferatum* јавили су се у мањем проценту. На 15 сорти озиме пшенице инокулираних са *Fusarium graminearum* и *Fusarium moniliforme*, које су биле отпорне и осетљиве, корелација између присуства гљива и њиховог развоја на биљци је $r = 0,91 - 0,99$. Приноси су у корелацији са изолатима $r = 0,84 - 0,97$ (Klechkovskaya, 1997). Микотоксини које синтетишу *Fusarium spp* су стабилни на производне процесе и имају тенденцију нагомилавања у производима који се најчешће користе за исхрану људи и стоке. Гљиве их синтетишу у цереалијама. Када је влажно време, током пролећа и лета, фаворизују се зеараленон и деоксиниваленол, а у условима суше - фумонизини.

Микотоксини немају довољно велику молекулску масу да би животињски и људски организми створили одговарајућа антитела.

Табела 1 . Садржај микотоксина (mg/kg) у зрну пшенице

Сорта	Третман	Микотоксини		
		зеараленон	фумонизини	деоксиниваленол
Југославија	Вешт. инокулација гљивама <i>Fusarium spp</i>	0,32	0,30	0,010
	Зрна која су 100% инфицирана гљивама <i>Fusarium spp</i>	0,38	0,40	0,015
Француска	Вешт. инокулација гљивама <i>Fusarium spp</i>	0,39	0,62	0,015
	Зрна која су 100% инфицирана гљивама <i>Fusarium spp</i>	0,62	0,80	0,018
ПКБ- Ленокласа	Вешт. инокулација гљивама <i>Fusarium spp</i>	0,47	0,56	0,017
	Зрна која су 100% инфицирана гљивама <i>Fusarium spp</i>	0,56	0,60	0,023

Зеараленон је доказан само у зрнима која су вештачки инокулисана гљивама *Fusarium spp* (таб.1). Регресионом анализом за масу 1.000 зрна и концентрацију зеараленона у зрнима пшенице утврђена је висока негативна корелација $r = -0,83$ (граф.1). Висока негативна корелација $r = -0,80$ утврђена је и за клијавост семена пшенице и концентрацију зеараленона у зрнима пшенице (граф. 2)

Упркос нестероидној структури, зеараленон показује естрогену активност према ткиву материце изазивајући специфичну синтезу протеина (*Kawabata et al.*, 1982). Свиње су веома осетљиве на зеараленон, а петлови су најмање осетљиви (*Hagler et al.*, 1980).

Szuets et al.(1997) наводе да је зеараленон одговоран за прерани пубертет код деце у Мађарској, што је доказано у серуму пацијената. Ова појава је забележена и у Северној Италији (*Fara et al.*, 1979). Фумонизини су нађени у зрнима која су вештачки инокулирана гљивама.

Најниже концентрације фумонизина утврђене су у зрнима сорте *Југославија*. У зрнима сорте *Француска* измерене су највеће концентрације фумонизина, у просеку 0,62 mg/kg, а највише у трећој години испитивања 0,64 mg/kg, када је висока релативна влажност ваздуха праћена високим температурама (таб.1). Регресионом анализом између масе 1.000 зрна и концентрације фумонизина у зрнима пшенице утврђен је висок негативни корелациони коефицијент $r = -0,99$ (граф. 3). За клијавост семена пшенице и концентрацију фумонизина у зрнима пшенице утврђен је низак корелациони коефицијент $r = -0,19$ (граф. 4).

Fusarium moniliforme и *Fusarium proliferatum* су продуценти фумонизина. Контаминација хране за људску исхрану и сточне хране фумонизинима је стална опасност, јер је *Fusarium moniliforme* универзално дистрибуиран у многим економски важним биљакама. *Fusarium moniliforme* је главни патоген на кукурузу у тропима, влажнијим и умереним регионима. Најважнији абиотски ефекти за токсигенезу су температура и влажност.

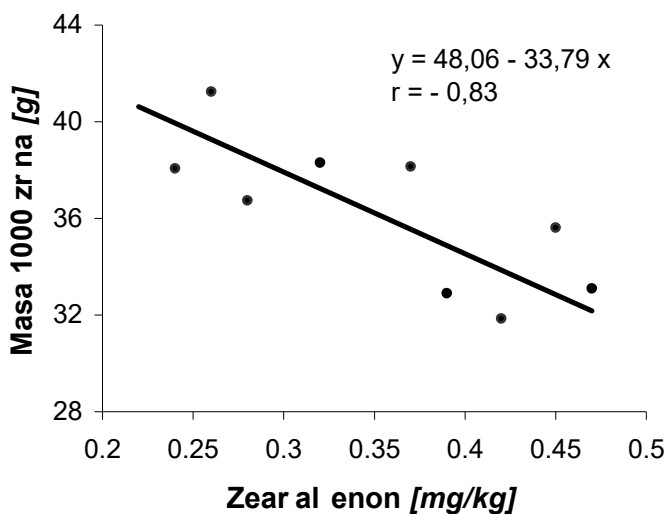
Храна за људе на бази кукуруза у многим земљама често садржи фумонизине (Pittet et al., 1992, Stack et Eppley, 1992). Познато је да фумонизин Б₁ изазива ЛЕМ код коња, код свиња оток плућа и хидроторакс, канцер јетре код пацова, смањење тежине пилића, а код људи канцер једњака (Kellerman et al., 1990, Harison et al., 1990, Gelderblom et al., 1991).

Деоксиниваленол је синтетисан само у зрнима која су вештачки инокулисана гљивама *Fusarium spp* код свих сорти. Регресионим анализама утврђен је однос садржаја деоксиниваленола у зрнима пшенице и степен инфекције класова пшенице $r = 0,34$ (граф. 9), масе 1.000 зрна и садржаја деоксиниваленола $r = -0,95$ (граф. 5), што је висока негативна корелација и клијавости семена пшенице и концентрације овог трихотецена, где је такође утврђена висока негативна корелација $r = -0,60$ (граф. 6).

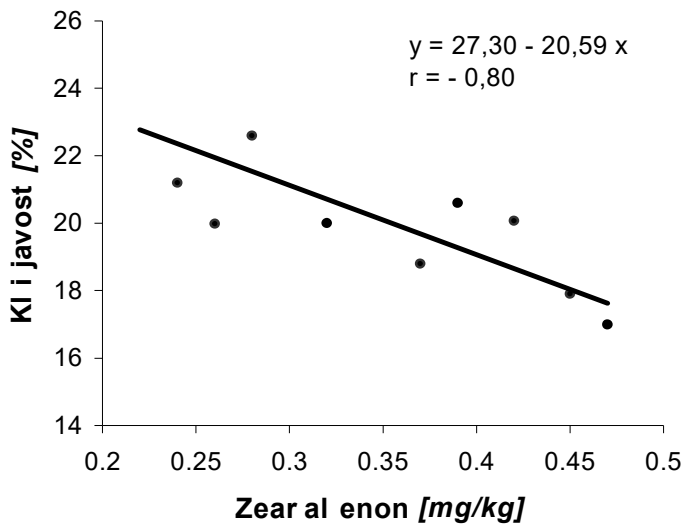
Код свих животиња трихотецени делују на активне деобне ћелије као што су: епител, тимус, слезина, продужена мождина, оваријум, тестиси и лимфни чворови. Ефекат трихотецена зависи од њихове концентрације. Најважнији је њихов висок афинитет према рибозомима еукариотских ћелија, посебно 60 S, где се одвија пептидил трансферазна активност. Активни центар може да се маскира деловима трихотеценског молекула. Акутна и хронична токсичност трихотецена подразумева нарушавање лимфоидног ткива

и промену имуног одговора. Учестало уношење трихотецена повећава осетљивост животиња на инфекције микроорганизама (*Ueno*, 1980). Са становишта здравља људи, важно је утврдити да ли се деоксиниваленол непромењен, или као потенцијално токсичан метаболит, укључује у ланац исхране људи путем животињских продуката, ако су животиње храњене деоксиниваленолом.

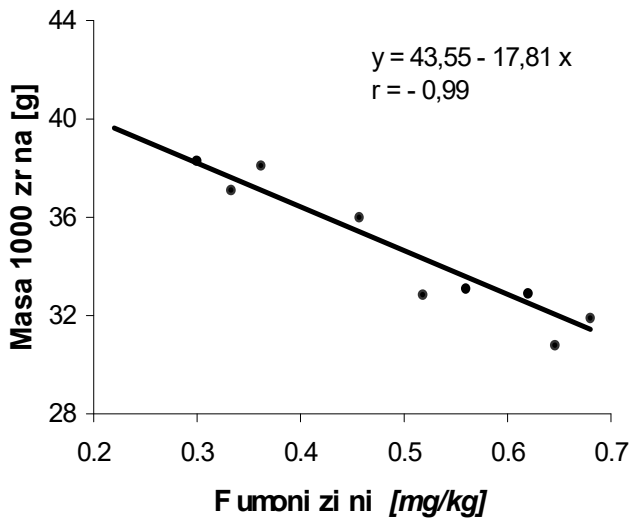
Деоксиниваленол је фитотоксичан због инхибиције синтезе еукариотског протеина (*Casale*, 1987). Концентрација од 0,3 mg/l инхибира раст колеоптила сорти пшенице које су осетљиве на фузариозу, док су отпорније сорте расле када су концентрације, овог трихотецена веће 10 – 100 пута. Концентрација деоксиниваленола већа од 3 mg/l инхибира раст корена пшенице (*Shimada et Otani*, 1990).



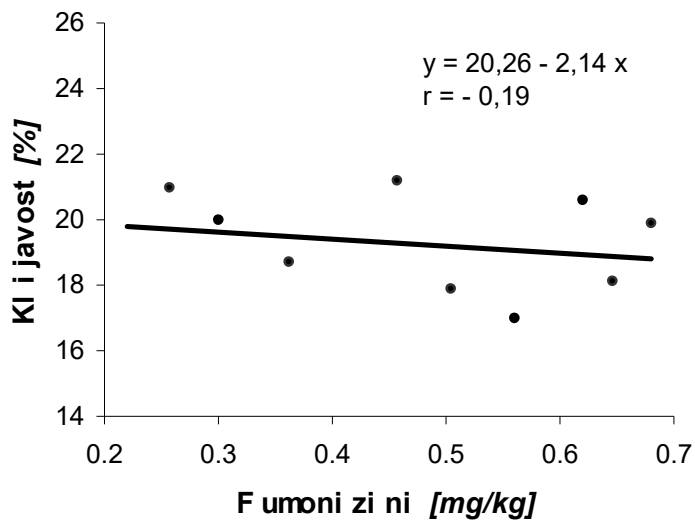
Граф. 1. Регресиона анализа између масе 1.000 зрна и садржаја зеараленона у зрнима пшенице



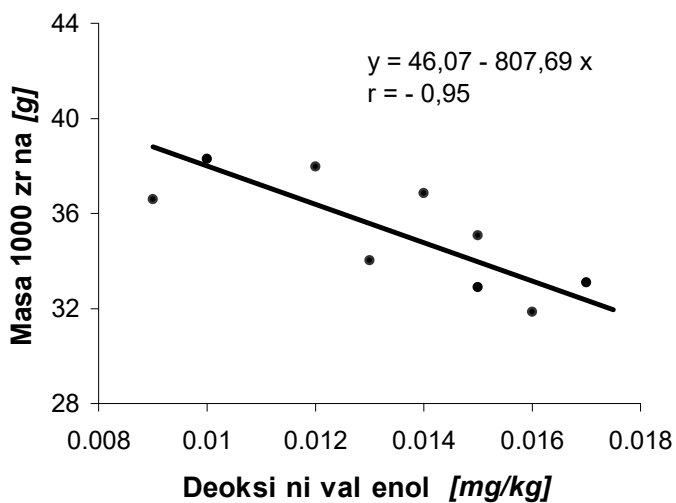
Граф. 2. Регресиона анализа између клијавости семена и садржаја зearаленона у зрнима пшенице



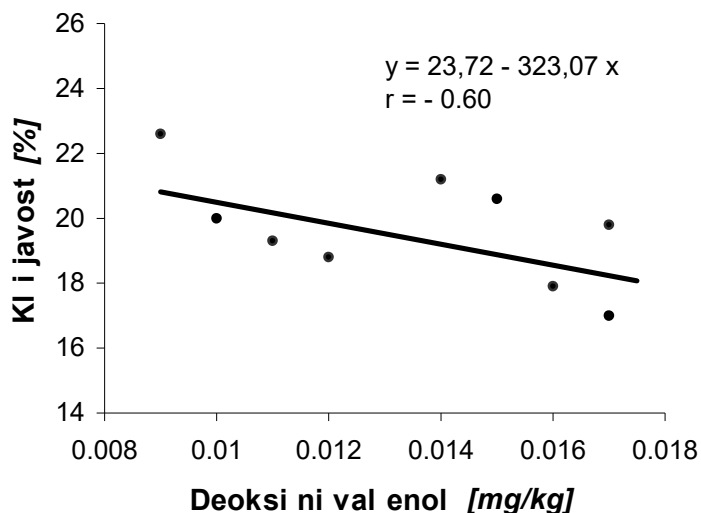
Граф. 3. Регресиона анализа између масе 1.000 зрна и садржаја фумонизина зрнима пшенице



Граф. 4. Регресиона анализа између клијавости семена и садржаја фумонизина у зрнима пшенице



Граф. 5. Регресиона анализа између масе 1.000 зрна и садржаја деоксиниваленола у зрнима пшенице



Граф. 6. Регресиона анализа између клијавости семена и садржаја деоксиниваленола у зрнима пшенице

Закључак

На основу резултата испитивања утицаја микотоксина на клијавост и масу 1.000 зрна озиме пшенице, могу се донети следећи закључци:

- доминантна гљива на одабраним генотиповима озиме пшенице била је *Fusarium graminearum*, *Fusarium moniliforme* и *Fusarium preoliferatum* која је нађена у мањем проценту;

- микотоксини су утврђени само у третманима вештачке инокулације гљивама *Fusarium spp.* Највеће концентрације зеараленона утврђене су у зрнима сорте *ПКБ-Лепокласа*. Високи негативни коефицијенти корелације утврђени су за концентрацију зеараленона и масу 1.000 зрна ($r=-0,83$) и клијавост ($r=-0,80$);

- фумонизини су нађени у зрну пшенице, највише у оквиру сорте *Француска*. Концентрације фумонизина су у ниској корелацији са клијавошћу ($r=-0,19$) и високој негативној корелацији са масом 1.000 зрна ($r=-0,95$) и клијавошћу ($r=-0,60$);

- садржај трихотецена типа Б-деоксиниваленола је највећи код сорте *ПКБ-Лепокласа*

Литература

1. Gelderblom, W.C.A., Jaskiewicz, K., G Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., Horak, R.M., Vlaggaar, R., Kriek, N.P.J.(1991): *Fumonisin-novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by F. moniliforme*. Appl. Environ. Microbiol. 54, 1806-1811.
2. Golinski, P., Kostecki, M., Kaptur, P., Wojciechowski, S., Kaczmarek, Z., Wisniewska, H., Hagler, W.M., Danko, Gy., Horvath, L., Palyusik, M., Mirocha, C.J. (1980): *Transmission of ZEA and its metabolite into ruminant milk*. Acta Vet. Acad. Sci. Hung., 28, 2, 209-216.
3. Casale, W. L., Hart, L.P. (1988): *Inhibition of ³H-leucine incorporation by trichothecene mycotoxin in maize and wheat tissue*. Phytopathology, 78, 1673-1677.
4. Kawabata, Y., Tashino, F., Ueno, Y. (1982) : J. Biochem., 91, 801-808.
5. Kellerman, T.S., Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., Gelderblom, W.C.A., Cawood, M., Coetzer, J.A.W. (1990) : *Leukoencephalomalacia in two horses induced by oral dosing of fumonisin B₁*. Onderstepoort J. Vet. Res., 57, 269-275.
6. Klechkovskaya H. (1997): *Specific wheat plants reaction to different Fusarium spp. infection*. Fifth. European Fusarium Seminar, 765-766.
7. Pittet, A., Parisod, V., Schellenberg, M. (1992): *Occurrence of fumonisins B₁ and B₂ in corn based products from the Swiss market*. J. Agric. Food Chem., 40, 1352-1354.
8. Szuets, P.M., Masterhazy, A., Falkay, Gy., Bartok, T. (1997): *Early telarche symptoms in children and their relations to zearalenon contamination in foodstuffs*. Fifth European Fusarium Seminar, 429-436.
9. Shimada. T., Otani, M. (1990): *Effects of Fusarium mycotoxins on the growth of shoots and roots at germination in some Japanese wheat cultivars*. Cereal Res. Commun., 18, 229-232.
10. Stock, M.E., Eppley, R.M. (1992): *Liquid chromatographic determination of fumonisins B₁ and B₂ in corn and corn products*. J. AOAC Int, 75, 834-837.

11. Ueno, Y. (1980): *Trichothecene Mycotoxins*, Adv. Nutr. Res., 3, 301.
12. Fara, G. M., Del Colvo, G., Bernuzzi, S. (1979): *Epidemic of breast enlargement in an Italian school*. Lancet II, 295-297.
13. Ware, G.M., Umrigar, P.P., Carman, A.S., Knan, S.S. (1994): *Evaluation of fumonitest immuno affinity colums*. Analytical letters, 27, 4, 693-715.

Примљено: 15.07.2005.

Редиговано: 18.07.2005.

EFFECTS OF MYCOTOXINS ON GERMINATION AND 1000-GRAIN WEIGHT OF WINTER WHEAT

Protić Nada, Protić R., Janković Snežana, Poštić D.

UDC: 632.4:633.11

Summary

Three winter wheat cultivars, PKB-Lepoklasa, Jugoslavija and Francuska, were differently susceptible to *Fusarium* spp., widely used in the production and processing, were selected for the experiment. Three treatments were applied to these cultivars: the artificial inoculation with the isolates *Fusarium* spp; wheat protection with the fungicide on the basis of active ingredients of flutriafol and carbendasim (85+135g L⁻¹) where the spontaneous infection in different wheat pheno-phases is monitored. The same cultivar from the same location didn't include in experiment. Experiments were performed three years. Phytopathologic estimate were two times during the period of vegetation. During three years of researching PKB Lepoklasa had 100% infected plants with fungi *Fusarium* spp., while cultivar Jugoslavia 85% , Francuska 65%. The presence of fungi resulted the reduced germination, as mycotoxins inhibited the proteins synthesis. The development of fungi in wheat plants resulted grain's wilt due to the damage of burial procession. The fungi of the genus *Fusarium* spp. produce many mycotoxins, while the presence of trichothecene type B-deoxynivalenol. Moreover, zearalenone and fumonisin were determined.

Key words: fusarioses, mycotoxins, wheat, germination, 1000 grain weight.

Author's address:
Dr Nada Protić
“ EKO-LAB” DOO za upravljanje kvalitetom
11213 P. Skela, Beograd

Received: 15.7.2005.
Accepted: 18.7.2005.