

III skyrius. AUGALŲ PATOLOGIJA IR APSAUGA

ISSN 1392–3196

Žemdirbystė, t. 94, Nr. 3 (2007), p. 162–175

UDK 633.11“324“:631.55.03:632.484.Б

MIKROSKOPINIŲ GRYBŲ PLITIMO IR MIKOTOKSINŲ KIEKIO ŽIEMINIŲ KVIEČIŲ GRŪDUOSE PRIKLAUSOMUMAS NUO JŲ NUĖMIMO LAIKO

Audronė MANKEVIČIENĖ¹, Zenonas DABKEVIČIUS¹,
Skaidrė SUPRONIENĖ¹, Rimutė MAČKINAITĖ²

¹Lietuvos žemdirbystės institutas

Akademija, Kėdainių rajonas

El. p.: audre@lzi.lt; dabkevicius@lzi.lt; skaidre@lzi.lt

²Botanikos institutas

Žaliųjų ežerų g. 49, Vilnius

El. p. rimute.mackinaite@botanika.lt

Santrauka

Pateikiami 2002–2004 m. atlikti mikroskopinių grybų ir mikotoksinų tyrimai žieminių kviečių grūduose derlių nuėmus optimaliu kietosios brandos metu ir pjūtį suvėlinus 10, 20 ir 30 dienų. Kritulių, rytinės rasos, dienos – nakties temperatūros svyravimų poveikis mikrobiologiniams procesams, vykusiems grūduose po kietosios brandos, drėgnesniais 2003–2004 m. buvo ryškesnis nei sausais 2002 m. Meteorologinės sąlygos ir grūdų drėgnis buvo vieni iš svarbiausių veiksnių, turėjusių įtakos mikroskopinių grybų pradų kiekio padidėjimui nuo 1,2 iki 11 kartų ir jų rūšių įvairovei. Drėgnesniais 2004 m., kviečius nukūlus optimaliu laiku, grūduose aptikta 12 taksonų, o kūlimą suvėlinus 30 dienų – 21 taksono mikromicetai. Vėlinant pjūties laiką, padidėjo potencialių mikotoksinų producentų, *Fusarium* genties grybų, įvairovė. Kietosios brandos metu nukultuose žieminių kviečių grūduose atpažintos dvi (*F. poae*, *F. sporotrichioides*), o nukūlus grūdus po 30 dienų, – aštuonios (*F. poae*, *F. sporotrichioides*, *F. avenaceum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. heterosporum*, *F. incarnatum*, *F. solani*) *Fusarium* rūšys.

Grybų rūšių įvairovė ir jų išplitimas žieminių kviečių grūduose priklausė nuo veislės. Žieminių kviečių veislės ‘Zentos’ grūduose aptikta didesnė *Fusarium* rūšių įvairovė, ypač vėlyvojo derliaus, tuo tarpu ‘Ada’ grūduose dažnesni buvo *Alternaria alternata*, *Sporotrichum aurantiacum*, *Ulocladium oudemansii*.

Grūdų pažeidimo skirtumai *Fusarium* genties grybais labiau išryškėjo drėgnesniais 2003–2004 m. Vėlyvojo derliaus nuėmimo metu *Fusarium* užterštų grūdų kiekis iš esmės buvo didesnis, lyginant su optimaliu laikotarpiu kultais grūdais.

2003 m. mikotoksinų deoksinivalenolio (DON), zearalenono (ZEN) ir T-2 toksino kiekio skirtumai, atsižvelgiant į derliaus nuėmimo laiką, neišryškėjo, tačiau 2004 m. padidėjo užsiteršimo zearalenonu rizika.

Reikšminiai žodžiai: žieminiai kviečiai, derliaus nuėmimo laikas, mikroskopiniai grybai, mikotoksina.

Ivadas

Mikroskopiniai grybai plačiai paplitę gamtoje ir, susidarius palankioms jiems vystytis sąlygoms (padidėjęs aplinkos drėgnis ir temperatūra), gali pažeisti augalines žaliavas, maisto produktus, pašarus ir atnešti didelius nuostolius žemės ūkiui ir maisto pramonei. Jų produkuojami metabolitai – mikotoksinai sukelia sunkius ir neprognozuojamus žmonių ir gyvūnų susirgimus – mikotoksikozes, apie kurias pastaruoju metu daug diskutuojama mokslinėje literatūroje /Diekman, Green, 1992; Bakutis, 2002; Mankevičienė, 2002; Bennett, Klich, 2003; Labuda, Tančinova, 2006/.

Maisto ir pašarų saugos reikalavimais mikroskopinių grybų kiekis yra ribojamas. Sąlyginai saugu naudoti tokius grūdus, pašarus ar kitus augalinės kilmės produktus, kai grybų pradų kiekis viename tiriamo produkto grame neviršija 10 tūkst. (1 lentelė). Labai svarbu, kokios grybų rūšys dominuoja, nes vieni grybai yra potencialūs mikotoksinų gamintojai, o kiti, nors ir negamina toksinių metabolitų, gali sukelti žmonėms ir gyvūnams alergines reakcijas.

1 lentelė. Mikroskopinių grybų kiekio vertinimas pagal maisto ir pašarų saugos reikalavimus ^{1,2}

Table 1. Evaluation of fungi content according to food and feed safety requirements^{1, 2}

Mikroskopinių grybų pradų kiekis 1 g <i>Mould count in 1 g</i>	Nurodymai / <i>Guidelines</i>
10 – 10 000	Sąlyginai saugus / <i>Relatively safe</i>
10 000 – 100 000	Pereinamoji zona / <i>Transition zone</i>
100 000 – 10 000 000	Įspėjamoji riba / <i>Caution advised</i>
> 10 000 000	Nerekomenduojama naudoti / <i>Feeding may not be recommended</i>

Mikroskopinių grybų kiekio didėjimą augalinės produkcijos auginimo metu gali nulemti taikomos žemdirbystės sistemos, azoto trąšų kiekis, ypač lietingais metais, fungicidų naudojimas, augalų genotipas, užsitęsęs derliaus nuėmimas, meteorologinės sąlygos ir grūdų drėgnis /Schollenberger ir kt., 2002; Lōiveke ir kt., 2003; Hietaniemi ir kt., 2004; Heier ir kt., 2005; Semaškienė ir kt., 2005; Gaurilčikienė ir kt., 2005; Mankevičienė ir kt., 2006/. Tyrimais nustatyta, kad optimaliausias grūdų drėgnis *Fusarium* genties grybams vystytis yra apie 17–19 % /Ruckenbauer, 2004/. Meteorologinės sąlygos turi tiesioginę įtaką grūdų drėgniui derliaus nuėmimo, transportavimo bei saugojimo metu, taip pat mikroskopinių grybų produkuojamiems toksinams susikaupti. Mikotoksinų produkcija labai priklauso ir nuo daugelio ekologinių veiksnių (aplinkos temperatūros, drėgnio, substrato sudėties, grybų toksiškumo lygio, konkurencinės mikrofloros buvimo, mikrobinės tarpusavio sąveikos, kenkėjų bei mechaninio pažeidimo derliaus nuėmimo ir saugojimo metu /Ominski ir kt., 1997; Lōiveke ir kt., 2004; Lugauskas ir kt., 2004; Dabkevičius ir kt., 2005; Lugauskas ir kt., 2007; Mankevičienė ir kt., 2007/. Mikotoksinai ne visada destabilizuoja gyvybiškai svarbias gyvūnų organizmo

¹ <http://www.dairylandlabs.com/downloads/Molds+chart.pdf>

² Pašarų ir pašarų priedų gamybos, laikymo, gabenimo, naudojimo, prekybos jais ir jų kokybės kontrolės normatyvinių aktų rinkinys. – Vilnius, ŽŪM, 2001

sistemas, tačiau gali veikti per produkciją (kiaušinius, mėsą, pieną) ir sukelti neprognozuojamas pasekmes žmonėms, vartojantiems šiuos produktus /Schachermayr, Fried, 2000/. Nors grūduose esantys grybai ne visada sąlygoja toksinų formavimąsi /Eskola ir kt., 2001/, tačiau jų buvimas yra potencialaus pavojaus signalas. Siekiant sustabdyti mikroskopinių grybų plitimą ir jų gaminamų toksinų junginių kaupimąsi grūduose jų transportavimo, valymo, džiovinimo, laikymo bei perdirbimo metu, būtina atkreipti dėmesį į derliaus nuėmimo laiką ir grūdų drėgnį. Lietuvoje šioje srityje atliktų tyrimų yra nepakankamai, todėl 2002–2004 m. mūsų vykdytų tyrimų tikslas buvo išsiaiškinti, kokią įtaką derliaus nuėmimo laikas ir meteorologinės sąlygos turi mikroskopinių grybų plitimui ir mikotoksinų deoksinivalenolio (DON), zearalenono (ZEN), T-2 toksino formavimuisi.

Tyrimų metodai ir sąlygos

Lauko bandymai. Žieminių kviečių 'Ada' ir 'Zentos' lauko bandymai ir laboratoriniai tyrimai daryti 2002–2004 m. Lietuvos žemdirbystės institute. Grybai identifiukuoti Botanikos instituto Fitopatogeninių mikroorganizmų laboratorijoje.

Žemės dirbimo, sėjos, pasėlių priežiūros darbai visų variantų laukeliuose buvo vienodi, rekomenduojami žieminiams kviečiams (Lazauskas, 1999).

Laboratoriniai tyrimai. Laboratorinėms analizėms grūdų mėginiai iš žieminių kviečių imti įvairiais derliaus nuėmimo laikotarpiais:

1. Grūdų kietojoje brandoje (optimalus derliaus nuėmimo laikotarpis) – Kb
2. 10 dienų po kietosios grūdų brandos – Kb+10 d.
3. 20 dienų po kietosios grūdų brandos – Kb+20 d.
4. 30 dienų po kietosios grūdų brandos – Kb+30 d.

Derliaus nuėmimo metu nustatytas grūdų drėgnis standartiniu džiovinimo metodu.

Grūdų paviršiniam užterštumui mikromicetais įvertinti naudotas praskiedimo metodas. Iš grūdų nuoplovų, jas praskiedus 1:1000, užsėjamos ant parūgštintos alaus misos agarų terpės (AMA). Išaugusios mikromicetų kolonijos po 3–5 dienų suskaičiuojamos. Šiuo metodu ištirtas mikromicetų pradų kolonijas sudarančių vienetų kiekis viename grame grūdų (tūkst. ksv g⁻¹). Vidinių grūdo audinių pažeidimas mikromicetais nustatytas išdėliojus 100 dezinfekuotų grūdų ant parūgštintos (0,6 g citrinos rūgšties 1 litrui terpės) bulvių dekstrozės agarų terpės (PDA). Grūdai dezinfekuoti 5 minutes 70 proc. etilo spirite, po to 3 kartus perplaunant steriliu vandeniu ir nusausinant steriliu filtriniu popieriumi. Petri lėkštelės su analizuojamais grūdais 7 paras inkubuojamos termostate su programuojamu (12 val. periodas) tamsos-šviesos režimu +26±2 °C temperatūroje. Mikromicetų išsivystymas įvertintas po 7-8 parų, nustatytos vyraujančios gentys. Tyrimai atliekami vadovaujantis mikrobiologinėmis metodikomis /Naumova, 1970; Samson ir kt., 1992; Malloch, 1997; Mathur, Kongsdal, 2003/.

Pirminis grybų kolonijų įvertinimas atliktas pačiose lėkštelėse naudojant mažiausią mikroskopo padidinimą (x10). Tikslėnei morfologinei analizei buvo ruošiami mikroskopiniai preparatai. Iš susiformavusių grybų kolonijų padaryti persėjimai ant agarizuotų bulvių dekstrozės (PDA), standartinės Čapeko (ČA), alaus misos (AMA) terpių, išskirtos grynos grybų kultūros. 2004 m. žieminių kviečių grūdų mėginiuose atlikta vidinės mikrobiotos analizė. Grybai išskirti ir identifiukuoti pagal kolonijų

kultūrinės ir morfologines savybes naudojant apibūdintojus /Ellis, 1971; 1976; Arx, 1981; Gerlach, Nirenberg, 1982; Nelson ir kt., 1983; Malone, Muskett, 1997; Lugauskas ir kt., 2002; Satton ir kt., 2001; Mathur, Kongsdal, 2003/.

Mikotoksinai deksinivalenolis (DON), zearalenonas (ZEN), T-2 toksinas 2003–2004 m. grūdų mėginiuose buvo nustatyti ELISA (imun fermentiniu) metodu /Wilkinson ir kt., 1992/, naudojant NEOGEN diagnostinius mikotoksinų nustatymo testus. Imun fermentinių reakcijų juostelių optiniam tankiui nustatyti buvo pritaikytas programuojamas daugiakanalis fotometras *Multiskan MS* su 650 nm bangos ilgio šviesos filtru.

Meteorologinės sąlygos. Augalų vegetacijos ir derliaus nuėmimo metu meteorologinės sąlygos darė didelę įtaką mikromicetų plitimui ir mikotoksinų sintezei. 2002 m. pavasaris buvo ankstyvas, šiltesnis nei įprasta ir sausringas. Gegužės mėnesio vidutinė temperatūra buvo net +3,2 °C aukštesnė nei vidutinė daugiametė, o kritulių iškrito tik 36,7 proc. normos. Vasara taip pat buvo sausa ir šiltesnė nei įprasta. Gausiau palijo tik birželio pabaigoje ir liepos pradžioje, bet prasidėję karšti orai greitai išdžiovino dirvą. Sąlygos grybinėms ligoms plisti buvo nepalankios dėl drėgmės stygiaus (a pav.).

2003 m. vasarą vyravo gana šilti orai. Ypač šilta buvo liepos mėnesį. Aktyvaus žieminių kviečių augimo, derlius nuėmimo metu Vidurio Lietuvoje lijo mažiau nei įprasta. Grūdai nukulti gerai išdžiūvę, nereikėjo papildomai džiovinti (b pav.).

2004 m. sezono metu vyravo šiek tiek vėsesni, nei įprasta (daugiametį stebėjimų duomenimis), orai. Iki birželio trečio dešimtadienio Vidurio Lietuvoje lijo retai ir negausiai. Tokiomis sąlygomis augalai vystėsi lėtai. Nuo liepos vidurio, kuomet prasidėjo varpinių javų grūdų formavimasis, įsivyravo dažni lietūs, oro temperatūra viršijo daugiametį vidurkį (c pav.). Tokios sąlygos buvo ypač palankios įvairių mikroskopinių grybų vystymuisi ant augalų. Dėl dažnų lietu javų vegetacija užsitęsė, derlius subrendo vėliau nei įprasta. Pasiekus kietąją brandą, žemieniai kviečiai nukulti rugpjūčio pirmą dešimtadienį, o paskutinis derliaus nuėmimas (kietoji branda +30 d.) buvo rugsėjo pirmą dešimtadienį.

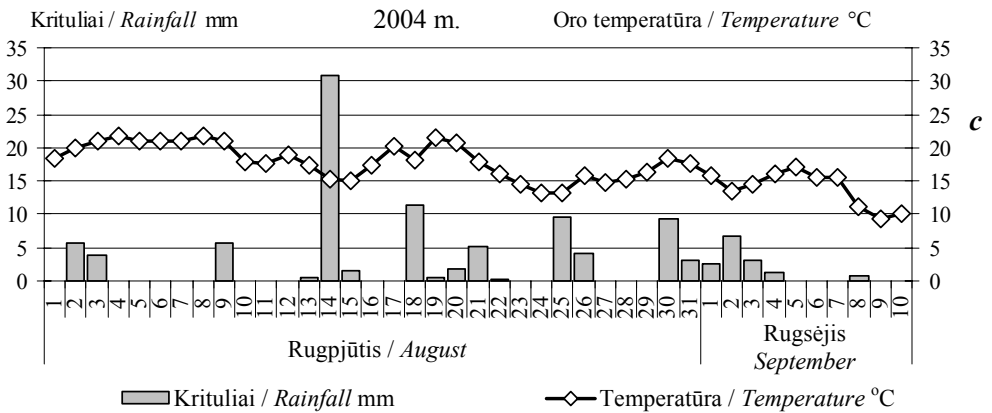
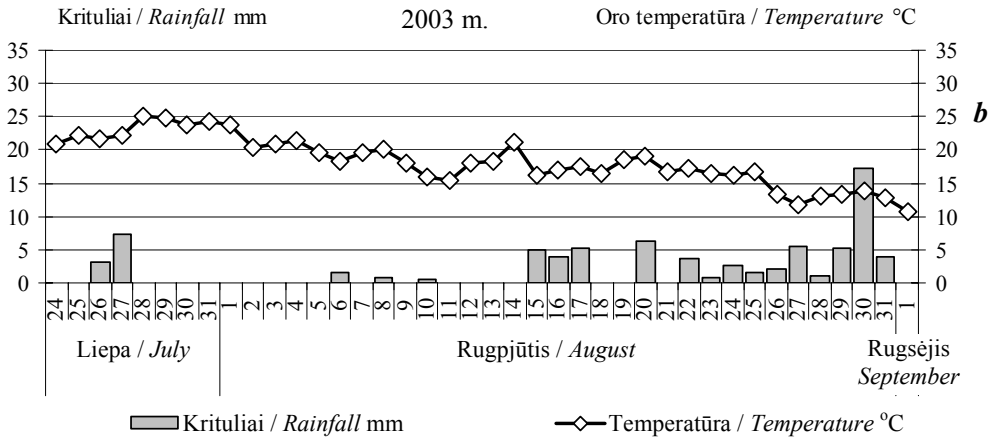
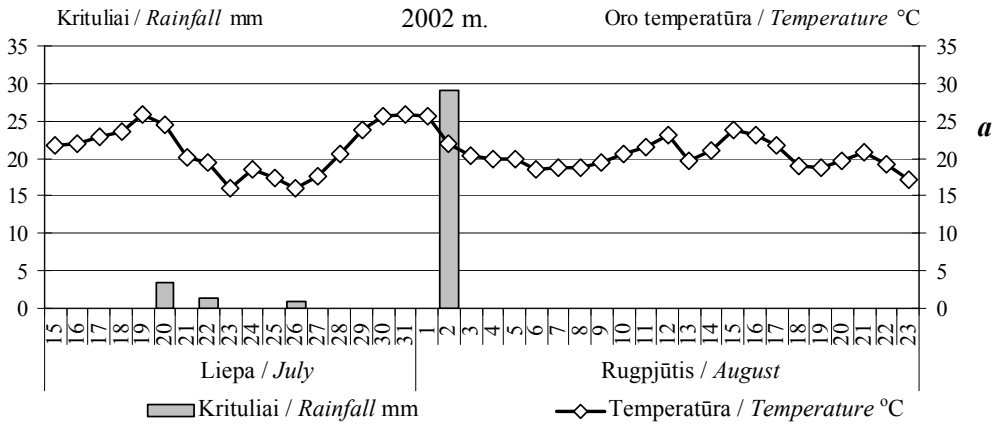
Bandymų duomenys statistiškai apdoroti programa ANOVA /Tarakanovas, Raudonius, 2003/.

Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

Tyrimų rezultatai rodo, kad skirtingais derliaus nuėmimo laikotarpiais grūdų drėgniui įtakos daugiausiai turėjo meteorologinės sąlygos.

2002 m. javapjūtės metu vyravo sausi orai, todėl grūdų drėgnis kviečių kietosios brandos metu siekė vidutiniškai 13,6 % (2 lentelė). Vėlinant derliaus nuėmimą, grūdų drėgnis dėl vyravusių sausų orų nesikeitė ('Ada' veislės) ar net žymiai mažėjo ('Zentos' veislės), o nukūlus po 30 dienų, tesiekė vidutiniškai 11,3 %.

2003 m. kviečių kietosios brandos metu grūdai buvo gerai išdžiūvę, jų drėgnis tesiekė 11,0 %, nes vyravo palankios meteorologinės sąlygos, tačiau vėlinant derliaus nuėmimą, pasitaikė lietingų dienų, kurios turėjo įtakos grūdų drėgnio padidėjimui. Nukūlus 20 dienų vėliau nei kietoji branda, vidutinis grūdų drėgnis padidėjo iki 17,0 %, o po 30 dienų – 16,2 %.



Paveikls. 2002–2004 m. meteoroloģinēs sāļgos derliaus nuēmimo metu
Figure. The weather conditions at harvesting during the 2002–2004 period

2 lentelė. Žieminių kviečių grūdų drėgnio kitimo priklausomumas nuo derliaus nuėmimo laiko

Table 2. Winter wheat grain moisture variation in relation to harvesting time
Dotnuva, 2002–2004 m.

Derliaus metai <i>Harvest year</i>	Veislė <i>Variety</i>	Grūdų drėgnio kitimas, priklausomai nuo derliaus nuėmimo laiko proc. <i>Grain moisture variation in relation to harvesting time %</i>			
		Derliaus nuėmimo laikotarpiai / <i>Harvesting time</i>			
		Kb*	Kb+10 d.	Kb+20 d.	Kb+30 d.
2002	‘Ada’	12,1±0,20	11,8±0,08	12,8±0,20	11,6±0,03
	‘Zentos’	15,4±0,10	14,7±0,08	11,4±0,09	11,1±0,09
	Vidurkis / <i>Mean</i>	13,6±0,15	13,3±0,08	12,1±0,14	11,3±0,06
2003	‘Ada’	11,1±0,11	10,8±0,23	17,7±0,06	16,7±0,12
	‘Zentos’	11,0±0,11	10,6±0,10	16,3±0,26	15,8±0,18
	Vidurkis / <i>Mean</i>	11,0±0,11	10,7±0,17	17,0±0,16	16,2±0,15
2004	‘Ada’	12,6±0,09	15,9±0,10	26,1±0,10	19,0±0,28
	‘Zentos’	13,1±0,24	15,3±0,22	26,1±0,19	18,3±0,14
	Vidurkis / <i>Mean</i>	12,8±0,17	15,6±0,16	26,2±0,15	18,7±0,21

* Kietoji branda (optimalus derliaus nuėmimo laikotarpis) / *Hard maturity (optimal harvesting time)*

Panašūs rezultatai gauti 2004 m. Optimalaus derliaus nuėmimo metu grūdų drėgnis siekė vidutiniškai 12,8 %, o vėlinant derliaus nuėmimą, grūdų drėgnis dėl lietingų dienų didėjo vidutiniškai net iki 26,2 %.

Mokslinėje literatūroje teigiama, kad, didėjant grūdų drėgniui, atsiranda galimybė plisti mikroskopiniams grybams /Ruckenbauer, 2004; Lōiveke ir kt., 2004/. Tačiau mūsų tyrimai parodė, kad, nepaisant vyravusių sausų orų 2002 m., vėlinant derliaus nuėmimą, mikroskopinių grybų pradų kiekis grūduose nuolat didėjo (3 lentelė). Jei optimaliu derliaus nuėmimo metu mikroskopinių grybų pradų kiekis siekė vidutiniškai 0,6 tūkst. g⁻¹, tai po 10 dienų jų kiekis padidėjo 1,5 karto, po 20 dienų – 6, o po 30 – beveik 7 kartus ir pasiekė 4,1 tūkst. g⁻¹.

Panašūs rezultatai gauti ir 2003 metais. Didesnį grūdų užterštumą, vėlinant derliaus nuėmimą, skatino drėgni orai. Trumpalaikiai lietūs didino grūdų drėgnį, o susidarius palankioms grybams plisti sąlygoms, jų kiekis, derlių nukūlus po 30 dienų po optimalaus laikotarpio, padidėjo beveik 11 kartų (nuo 3,0 iki 32,8 tūkst. ksv g⁻¹).

2004 m. dažni lietūs tiek grūdų formavimosi, tiek derliaus nuėmimo metu sudarė palankias sąlygas mikroskopiniams grybams vystytis, todėl jų kiekis, lyginant su ankstesniais tyrimų metais, buvo žymiai didesnis ir siekė vidutiniškai 35,0 tūkst. ksv g⁻¹. Vertinant tokius grūdus pagal maisto ir pašarų saugos reikalavimus (1 lentelė), jie priskiriami pereinamosios zonos kategorijai (10,0–100,0 tūkst. ksv g⁻¹), nes užterštumas varijavo nuo 35,0 iki 49,1 tūkst. ksv g⁻¹. Vėlinant derliaus nuėmimą 10, 20 ir 30 dienų, mikroskopinių grybų kiekis buvo 9,7–14,1 tūkst. ksv g⁻¹ didesnis (esminiai skirtumai esant p≤0,01), lyginant su optimaliu derliaus nuėmimo laikotarpiu. Jau kietosios brandos

tarpsniu grybų kiekis grūduose buvo labai didelis, vėlinant pjūtį, didėjo dar 1,2–1,4 karto.

3 lentelė. Mikroskopinių grybų kiekio kitimo žieminių kviečių grūduose priklausomumas nuo derliaus nuėmimo laiko

Table 3. The variation of fungi content in winter wheat grain in relation to harvesting time

Dotnuva, 2002–2004 m.

Derliaus metai <i>Harvest year</i>	Veislė ir vidutiniai duomenys <i>Variety and mean data</i>	Mikromicetų pradų kiekis ksv tūkst. g ⁻¹ <i>Content of fungi propagules cfu thous. g⁻¹</i>			
		Derliaus nuėmimo laikotarpiai / <i>Harvesting time</i>			
		Kb*	Kb+10 d.	Kb+20 d.	Kb+30 d.
2002	‘Ada’	0,9	0,6	3,5	4,3
	‘Zentos’	0,3	1,2	3,7	3,9
	Vidurkis / <i>Mean</i>	0,6	0,9	3,6**	4,1**
2003	‘Ada’	2,0	12,4	29,4	34,1
	‘Zentos’	4,0	11,7	31,6	31,2
	Vidurkis / <i>Mean</i>	3,0	12,0**	30,5**	32,8**
2004	‘Ada’	42,2	45,6	62,6	58,0
	‘Zentos’	28,8	45,1	35,7	31,3
	Vidurkis / <i>Mean</i>	35,0	45,4**	49,1**	44,7**

* Kietoji branda (optimalus derliaus nuėmimo laikotarpis) / *Hard maturity (optimal harvesting time)*

** Esminis skirtumas 99 % tikimybės lygiu nuo kietosios brandos (Kb)

Significant difference at 99 % probability level from hard maturity

Apibendrinus derliaus nuėmimo laiko mikromicetų kiekio kitimui žieminių kviečių grūduose tyrimus galima teigti, kad, nepriklausomai nuo pradinio mikromicetų kiekio grūduose ir nuo meteorologinių sąlygų, jų kiekis, vėlinant javapjūtę, didėjo. Absolutus mikromicetų kiekis grūduose priklausė nuo kritulių kiekio ir drėgmės. Mikromicetų kiekis nuo augalų veislės priklausė mažiau nei nuo meteorologinių sąlygų. Panašius rezultatus pateikia ir kiti autoriai, kurie teigia, kad vienas iš daugiausia įtakos turinčių veiksnių yra derliaus nuėmimo laikas /Ominski ir kt., 1997; Lōiveke ir kt., 2003/.

Derliaus nuėmimo laikas turėjo įtakos ir mikroskopinių grybų rūšių įvairovei bei jų išplitimui. Iš viso tirtuose žieminių kviečių grūduose identifikuoti 23 taksonų mikromicetai (4 lentelė). Derlių nukūlus optimaliu laiku, grūduose aptikta 12 taksonų, o kūlimą pavėlinus 30 dienų – 21 taksono mikromicetai. Dažniausiai tirtuose žieminių kviečių grūduose buvo aptikami *Alternaria alternata* (27,0–42,0 %) ir *Ulocladium oudemansii* (20,0–46,0 %), nors šie mikromicetai labiau buvo išplitę kietosios brandos žieminių kviečių grūduose. Tuo tarpu *Sporotrichum aurantiacum* ir *Chrysosporium merdarium* dažniau buvo aptinkami vėlyvojo derliaus nuėmimo grūduose. Pastarojo grybo išplitimas yra siejamas su substrato sugebėjimu sugerti drėgmę iš aplinkos /Lugauskas ir kt., 2002/. Vėlyvojo derliaus nuėmimo grūduose labai padidėjo *Fusarium* genties grybų, potencialių toksinių junginių gamintojų, įvairovė. Jei grūduose, nukul-

tuose kietosios brandos, aptiktos tik dvi *Fusarium* rūšys, tai nukūlus po 30 dienų, jų padidėjo iki aštuonių (4 lentelė). Labiausiai tirtuose grūduose buvo išplitę *F. poae* ir *F. sporotrichioides*. Jų aptikimo dažnis siekė atitinkamai iki 12,0 % ir 5,0 %. Nors kitų atpažintų *Fusarium* rūšių (*F. avenaceum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. heterosporum*, *F. incarnatum*, *F. solani*) buvo gerokai mažiau ir siekė 1,0–3,0 %, tačiau visi šie grybai yra potencialūs mikotoksinų gamintojai /Bennett, Klich, 2003/. Vadinas, suvėlinus žieminių kviečių nuėmimo laiką, gali padidėti toksinių junginių producentų įvairovė, taip pat ir mikotosinų kiekis grūduose bei grūdų kokybė.

4 lentelė. Mikroskopinių grybų rūšių įvairovės ir aptikimo dažnio žieminių kviečių grūduose priklausomumas nuo derliaus nuėmimo laiko

Table 4. Diversity and frequency of occurrence of fungi in winter wheat grain in relation to harvesting time

BI, 2004 m.

Mikromicetai / <i>Fungi</i>	Aptikimo dažnis % Frequency of occurrence %			
	‘Ada’		‘Zentos’	
	Kb*	Kb+30 d.	Kb	Kb+30 d.
<i>Acremoniella atra</i> (Corda) Sacc.	0	3,0	0	0
<i>Acremonium</i> sp.	0	0	0	6,0
<i>Acremonium strictum</i> W. Gams	14,0	2,0	8,0	4,0
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	42,0	40,0	37,0	27,0
<i>Arthrinium phaeospermum</i> (Corda) M. B. Ellis	0	9,0	4,0	2,0
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	0	1,0	0	0
<i>Chrysosporium merdarium</i> (Ehrenb) J. W. Carmich.	3,0	28,0	1,0	26,0
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Frensen.) G. A. de Vries	2,0	0	0	0
<i>Fusarium avenaceum</i> (Fr.) Sacc.	0	2,0	0	2,0
<i>F. equiseti</i> (Corda) Sacc.	0	1,0	0	0
<i>F. graminearum</i> Schwabe	0	2,0	0	1,0
<i>F. heterosporum</i> Nees	0	2,0	0	1,0
<i>F. poae</i> (Peck) Wollenw.	8,0	4,0	7,0	12,0
<i>F. incarnatum</i> (Desm.) Sacc.	0	0	0	3,0
<i>F. solani</i> (Mart.) Appel et Wollenw.	0	0	0	1,0
<i>F. sporotrichioides</i> Sherb.	0	5,0	1,0	5,0
<i>Fusarium</i> . spp.	0	0	0	2,0
<i>Melanospora damnosa</i> (Sacc.) Lindau	5,0	0	12,0	0
<i>Mycelia sterilia</i>	4,0	2,0	3,0	0
<i>Nigrospora sphaerica</i> (Sacc.) E. W. Mason	1,0	9,0	0	7,0
<i>Penicillium</i> sp.	0	2,0	0	1,0
<i>Sporotrichum aurantiacum</i> Bull. et Fr.	3,0	36,0	3,0	23,0
<i>Ulocladium oudemansii</i> E. G. Simmons	46,0	20,0	32,0	22,0

* Kietoji branda (optimalus derliaus nuėmimo laikotarpis) / *Hard maturity (optimal harvesting time)*

Mikromicetų išplitimas grūduose priklausė ir nuo jų veislės. Vėlyvesnės žieminių kviečių veislės 'Zentos' grūduose aptikta didesnė *Fusarium* rūšių įvairovė, ypač derliaus nuėmimą vėlinant 30 dienų. Tuo tarpu žieminių kviečių 'Ada' grūduose dažniau buvo aptikti *Alternaria alternata*, *Sporotrichum aurantiacum*, *Ulocladium oudemansii* (4 lentelė).

Vertinant vidinių grūdo audinių pažeidimą *Fusarium* genties grybais nustatyta, kad sausringais 2002 m. visais žieminių kviečių derliaus nuėmimo laikotarpiais pažeidimas buvo panašus ir varijavo nuo 4,2 iki 6,4 % (5 lentelė). Tačiau drėgnesniais 2003–2004 metais vėlyvo derliaus nuėmimo metu *Fusarium* genties grybais pažeistų grūdų buvo iš esmės daugiau, lyginant su kultaisiais optimaliu derliaus nuėmimo laikotarpiu.

Nors 'Zentos' grūdų užterštumas *Fusarium* genties grybais buvo šiek tiek didesnis nei 'Ada', ypač vėlinant derliaus nuėmimą, tačiau esminio skirtumo tarp šių veislių grūdų užterštumo *Fusarium* grybais nenustatyta.

5 lentelė. *Fusarium* genties grybų kiekio kitimo žieminių kviečių grūdų vidiniuose audiniuose priklausomumas nuo derliaus nuėmimo laiko

Table 5. *The variation of Fusarium genus fungi content in winter wheat grain internal tissue in relation to harvesting time*

Dotnuva, 2002–2004 m.

Derliaus metai <i>Harvest year</i>	Veislė <i>Variety</i>	<i>Fusarium</i> grybais pažeistų grūdų kiekis % <i>Fusarium</i> –affected grain %			
		Derliaus nuėmimo laikotarpiai / <i>Harvesting time</i>			
		Kb*	Kb+10 d.	Kb+20 d.	Kb+30 d.
2002	'Ada'	4,8	4,2	4,8	5,5
	'Zentos'	6,4	5,3	5,8	5,0
	Vidurkis / <i>Mean</i>	5,6	4,8	5,3	5,3
2003	'Ada'	5,1	4,8	6,0	10,6
	'Zentos'	5,6	4,8	5,0	10,0
	Vidurkis / <i>Mean</i>	5,4	4,8	5,5	10,3***
2004	'Ada'	8,9	5,1	7,0	9,8
	'Zentos'	5,4	5,4	11,5	11,4
	Vidurkis / <i>Mean</i>	7,2	5,3	9,3	10,6**

* Kietoji branda (optimalus derliaus nuėmimo laikotarpis) / *Hard maturity (optimal harvesting time)*

** Esminis skirtumas 95 % tikimybės lygiu nuo kietosios brandos (Kb)

Significant difference at 95 % propability level from hard maturity

*** Esminis skirtumas 99 % tikimybės lygiu nuo kietosios brandos (Kb)

Significant difference at 99 % propability level from hard maturity

Mikrobiologinės analizės grūdų mėginiuose rodo, kad, vėlinant derliaus nuėmimą ir atsižvelgiant į meteorologines sąlygas, padidėjo grūdų drėgnis, užterštumas mikroskopinių grybų pradais ir potencialiai toksiškų mikromicetų kiekis bei jų įvairovė.

Atlikus mikotoksinų analizės 2003 m. nustatyta, kad, nepriklausomai nuo derliaus nuėmimo laiko, deoksinivalenoliu buvo užteršta 75–100 %, zearalenonu – 50–75 %, o T-2 toksinu – 25–87,5 % grūdų mėginių (6 lentelė). Nustatytos tirtų mikotoksinų

koncentracijos nėra didelės, lyginant su leistinomis³, tačiau labai svarbu, kokiam tikslui šie grūdai bus naudojami perdirbant (maisto pramonei, pašarų gamybai, kūdikių mitybai ir kt.). Visi trys toksinai viename mėginyje gali turėti žymiai didesnę toksišką poveikį⁴.

Derliaus nuėmimo laiko įtaka mikotoksinų kiekiui žieminių kviečių grūduose išryškėjo tik 2004 m. Nustatyta, kad vėlinant derliaus nuėmimą, didėja užsiteršimo toksinu zearalenonu rizika. Derlių nukūlus optimaliu laiku, zearalenono nerasta, o vėlinant derliaus nuėmimą, mėginių užsiteršimas zearalenonu pasiekė net 100 % ir padidėjo jo koncentracijos, lyginant su 2003 m. grūduose nustatytais koncentracijomis. Tai galėjo nulemti dažni lietūs vėlyvo derliaus nuėmimo metu, kurie sudarė galimybę plisti šio toksino producentams *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. heterosporum* (4 lentelė). Grūduose, kurių drėgnis iki 13,0 %, tikimybė kauptis toksinams sumažėja net ir esant toksiškų producentų /Lūšveke ir kt., 2004/.

6 lentelė. *Fusarium* grybų produkuojamų mikotoksinų kiekio žieminių kviečių skirtingų veislių grūduose priklausomumas nuo derliaus nuėmimo laiko

Table 6. *The content of Fusarium produced mycotoxins in winter wheat grain as affected by harvesting time*

Dotnuva, 2003–2004 m.

		Derlius nuimtas optimaliu laiku / <i>Harvested at optimal time</i>					
Derliaus metai <i>Harvest year</i>	Veislė <i>Variety</i>	DON / <i>deoxynivalenol</i>		ZEN / <i>zearalenone</i>		T-2 toksinas / <i>T-2 toxin</i>	
		Užteršta mėginių % <i>Contaminated samples %</i>	Koncentracija $\mu\text{g kg}^{-1}$ <i>Concentration $\mu\text{g kg}^{-1}$</i>	Užteršta mėginių % <i>Contaminated samples %</i>	Koncentracija $\mu\text{g kg}^{-1}$ <i>Concentration $\mu\text{g kg}^{-1}$</i>	Užteršta mėginių % <i>Contaminated samples %</i>	Koncentracija $\mu\text{g kg}^{-1}$ <i>Concentration $\mu\text{g kg}^{-1}$</i>
2003	‘Ada’	100	25,0–75,0	75	2,9–18,1	50	1,0–3,7
	‘Zentos’	100	71,0–124,0	50	1,0–8,4	87,5	2,1–33,0
2004	‘Ada’	100	63,0–72,0	0	0	25	1,0–10,2
	‘Zentos’	75	68,0–71,0	0	0	0	0
		Derlius nuimtas 30 d. vėliau / <i>Harvested 30 days later</i>					
2003	‘Ada’	75	43,0–57,0	75	1,0–15,9	75	1,4–5,8
	‘Zentos’	100	36,0–52,0	50	1,0–7,4	25	1,0–3,3
2004	‘Ada’	100	28,0–36,0	100	14,5–61,2	0	0
	‘Zentos’	100	34,0–137,0	100	11,0–29,2	0	0

Išvados

1. Vėlinant derliaus nuėmimą po kietosios brandos 10, 20 ir 30 dienų, grūdus veikiantys krituliai, rytinės rasos, dienos - nakties temperatūros svyravimai suaktyvina mikrobiologinius procesus, kurie vyksta laikotarpiu po kietosios brandos ir intensyvesni yra drėgnais nei sausais metais. Meteorologinės sąlygos ir grūdų drėgnis turėjo daugiausia įtakos mikromicetų pradų kiekiui didėjimui nuo 1,2 iki 11 kartų.

³ Commission regulation (EC) No 856/2005

⁴ Commission recommendation (EB) No 576/2006

2. Vėlinant derliaus nuėmimo laiką, žieminių kviečių grūduose didėja mikroskopinių grybų įvairovė. Žieminių kviečių kietosios brandos grūduose nustatyta 12 taksonų, o nukūlus 30 dienų vėliau – 21 taksono mikromicetai.

3. Vėlinant pjūties laiką, potencialių mikotoksinų producentų, *Fusarium* spp. grybų, įvairovė padidėja. Kietosios brandos metu nustatytos dvi (*F. poae*, *F. sporotrichioides*), o nukūlus po 30 d. – aštuonios (*F. poae*, *F. sporotrichioides*, *F. avenaceum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. heterosporum*, *F. incarnatum*, *F. solani*) *Fusarium* rūšys

4. Grybų rūšių įvairovė ir jų išplitimas žieminių kviečių grūduose priklauso nuo jų veislės. 'Zentos' veislės grūduose aptikta didesnė *Fusarium* rūšių įvairovė, ypač vėlyvojo derliaus nuėmimo metu, tuo tarpu 'Ada' grūduose dažnesni buvo *Alternaria alternata*, *Ulocladium oudemansii*, *Sporotrichum aurantiacum* grybai.

5. Derliaus nuėmimo laiko įtaka žieminių kviečių grūdų pažeidimui *Fusarium* genties grybais labiau išryškėjo drėgnesniais metais. Vėlyvojo derliaus nuėmimo metu, t. y. praėjus 30 dienų po kietosios brandos, 2003–2004 m. *Fusarium* genties grybais pažeistų grūdų kiekis buvo iš esmės didesnis, lyginant su optimaliu laikotarpiu kultais grūdais. Sausais 2002 m. grūdų pažeidimas *Fusarium* grybais neišryškėjo.

6. 2003 m. mikotoksinų deoksinivalenolio, zearalenono ir T-2 toksino kiekio skirtumai žieminių kviečių grūduose, atsižvelgiant į derliaus nuėmimo laiką, neišryškėjo, tačiau 2004 m., vėlinant derliaus nuėmimą, padidėjo žieminių kviečių grūdų užsiteršimo zearalenonu rizika.

Padėka

Dėkojame Lietuvos valstybiniam mokslo ir studijų fondui bei Lietuvos Respublikos žemės ūkio ministerijai, rėmusiems tyrimus pagal projektą „Kenksmingos medžiagos žemės ūkio produkcijoje: rizikos veiksniai ir prevencija“ (registracijos Nr. M-07002) bei LŽI Cheminių tyrimų laboratorijos jaunesniajai mokslo darbuotojai J. Cesevičienei ir Augalų mitybos ir agroekologijos skyriaus darbuotojams už lauko tyrimų vykdymą.

Gauta 2007 08 16

Pasirašyta spaudai 2007 09 24

LITERATŪRA

1. Arx J.A. The Genera of Fungi Sporulating in Pure Culture. – Hirscheberg, 1981. – 423 p.
2. Bakutis B. Concentration of mycotoxins in forage under problematic cases // Veterinarija ir zootechnika. – 2002, t. 19 (41), p. 35–37
3. Bennett J. W., Klich M. Mycotoxins // Clinical Microbiology Reviews. – 2003, vol. 16 (3), p. 497–516
4. Dabkevičius Z., Sinkevičienė J., Semaškienė R., Šaluchaitė A. Fungal infection of the Lithuania-grown spring barley seed // Žemdirbystė: mokslo darbai / LŽI, LŽŪU. – Akademija (Kėdainių r.), 2005, t. 92 (4), p. 106–119
5. Diekman, M. A., Green, M. L. Mycotoxins and reproduction in domestic livestock // Journal of Animal Science. – 1992, vol. 70 (5), p. 1615–1627
6. Ellis M. B. *Dematiaceous Hyphomycetes*. – Kew, Surrey, 1971. – 608 p.
7. Ellis M. B. *More Dematiaceous Hyphomycetes*. – Kew, Surrey, 1976. – 507 p.

8. Eskola M., Parikka P., Rizzo A. Trichothecenes, ochratoxin A and zearalenone contamination and *Fusarium* infection in Finnish cereal samples in 1998 // *Food Additives and Contaminants*. – 2001, vol. 18 (8), p. 707–718
9. Gaurilėikienė I., Mankevičienė A., Dabkevičius Z. Impact of triazole and strobilurin fungicides on the incidence of toxic fungi and mycotoxins on winter wheat grain // *Botanica Lithuanica*. – 2005, suppl. 7, p. 27–35
10. Gerlach W., Nirenberg H. *The Genus Fusarium – a Pictorial Atlas*. – Berlin, 1982. – 406 p.
11. Heier T., Jain S. K., Kogel K.-H., Pons-Kühneman J. Influence of N-fertilization and fungicide strategies on *Fusarium* head blight severity and mycotoxin content in winter wheat // *Journal of Phytopathology*. – 2005, vol. 153 (9), p. 551–557
12. Hietaniemi V., Kontturi M., Rämö S. et al. Contents of trichothecenes in oats during official variety, organic cultivation and nitrogen fertilization trials in Finland // *Agricultural and Food Science*. – 2004, vol. 13 (1–2), p. 54–67
13. Labuda R., Tančinova D. Fungi recovered from Slovakian poultry feed mixtures and their toxinogenicity // *Annals Agricultural and Environmental Medicine*. – 2006, vol. 13, p. 193–200
14. Lõiveke H., E. Ilumäe, Laitamm H. Microfungi in grain and grain feeds and their potential toxicity // *Agronomy Research*. – 2004, vol. 2(2), p. 195–205
15. Lõiveke H., Laitamm H., Sarand R.-J. *Fusarium* fungi as potential toxicants on cereals and grain feed grown in Estonia during 1973–2001 // *Agronomy Research*. – 2003, vol. 1 (2), p. 185–196
16. Lugauskas A., Paškevičius A., Repečkienė J. Patogeniški ir toksiški mikroorganizmai žmogaus aplinkoje. – Vilnius, 2002. – 434 p.
17. Lugauskas A., Krasauskas A., Repečkienė J. Ekologiniai veiksniai, lemiantys mikromicetų paplitimą ant javų grūdų ir sojų sėklų // *Ekologija*. – 2004, vol. 2, p. 21–32
18. Lugauskas A., Raila A., Zvicevičius E. et al. Factors determining accumulation of mycotoxin producers in cereal grain during harvesting // *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. – 2007, vol. 14 (1), p. 173–186
19. Malloch D. *Moulds. Isolation, cultivation, identification*. – Toronto, 1997 / <http://www.Botany.utoronto.ca>
20. Malone J.P., Muskett A.E. // *Seed-Borne Fungi*. – Zurich, Switzerland, 1997. – 191 p.
21. Mankevičienė A. The effects of mycotoxin zearalenone on reproductive performance of boars and measures for inactivation of zearalenone // *RAKSTI*. Proceedings of Latvia university of agriculture. – 2002, vol. 7(302), p. 48–58
22. Mankevičienė A., Dabkevičius Z., Mačkinaitė R., Cesevičienė J. Žiemiųjų kviečių grūdų užterštumas mikromicetais ir mikotoksinais priklausomai nuo tręšimo lygio // *Žemdirbystė: mokslo darbai / LŽI, LŽŪU*. – Akademija (Kėdainių r.), 2006, t. 94 (3), p. 131–140
23. Mankevičienė A., Butkutė B., Dabkevičius Z., Supronienė S. *Fusarium* mycotoxins in Lithuanian cereals from the 2004–2005 harvests // *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. – 2007, vol. 14 (1), p. 103–107
24. Mathur S.B., Kongsdal O. *Common laboratory seed health testing methods for detecting fungi*. – Denmark, Copenhagen, 2003. – 425 p.
25. Ominski K., Marquardt R.R., Sinha R.N., Abrasmon D. Ecological aspects of growth and mycotoxin production by storage fungi // eds. J. D. Miller, H. L. Trenholm. *Mycotoxins in grain: compounds other than aflatoxin*. – St. Paul, Minnesota, 1997, p. 287–312

26. Naumova N.A., Analiz semjan na gribnuju i bacterial'nuju infekciju. – Leningrad, 1970. – 208 p. – Rus.
27. Nelson P.E., Tousson T.A., Marasas W.F.O. *Fusarium species // An illustrated Manual for Identification.* – USA, Pennsylvania, 1983. – 193 p.
28. Ruckebauer P. Influence of harvest and storage conditions on trichothecenes levels in various cereals // In: *Trichothecenes with a special focus on DON. Summary report of a workshop held in September 2003 in Dublin, Ireland, ILSI Europe.* – Brussel, 2004. – 40 p. <http://europe.ilsa.org/file/RPDON.pdf>
29. Samson R.A., Hocking A.D., Pitt J.I. et al. *Modern Methods in Food Mycology.* – Amsterdam: Elsevier, 1992. – 388 p.
30. Satton D. Forengill A., Rinaldi M. *Opredelitel' patogennyh i uslovno patogennyh gribov.* – Moskva: Mir, 2001. – 468 p. – Rus.
31. Schachermayr G., Fried M.P. *Problemkreis Fusarien und ihre Mykotoxine // Agrarforschung.* – 2000, vol. 7 (6), p. 252–257
32. Schollenberger M., Jara H.T., Suchy S. et al. *Fusarium toxins in wheat flour collected in an area in southwest Germany // International Journal of Food Microbiology.* – 2002, vol. 72(1-2), p. 85–89.
33. Semaškienė R., Mankevičienė A., Dabkevičius Z., Leistrumaitė A. *Toxic fungi infection and mycotoxin level in organic grain // Botanica Lithuanica.* – 2005, suppl. 7, p. 17–25
34. Tarakanovas P., Raudonius S. *Agronominių tyrimų duomenų statistinė analizė taikant kompiuterines programas ANOVA, STAT, SPLIT-PLOT iš paketo SELEKCIJA ir IRRISTAT.* – Akademija (Kėdainių r.), 2003. – 57 p.
35. Wilkinson A.P., Ward C.M., Morgan M.R.A. *Immunological analysis of mycotoxins // eds. H. F. Lins-Kens, J. F. Jackson. Plant toxin analysis.* – Berlin, 1992, p. 185–225
36. *Žeminių javų auginimas / sudaryt. S. Lazauskas.* – Vilnius, 1999. – 56 p.

THE OCCURRENCE OF FUNGI AND MYCOTOXIN CONTENT IN WINTER WHEAT GRAIN IN RELATION TO HARVESTING TIME

A. Mankevičienė, Z. Dabkevičius, S. Supronienė, R. Mačkinaitė

Summary

The present paper provides tests of fungi and mycotoxins in winter wheat grain harvested at hard maturity stage and at delayed harvesting dates during the period 2002–2004. Microbiological analyses showed that in the case of a delay in harvesting by 10, 20, and 30 days after hard maturity the grain was affected by precipitation, morning dew, and day-night temperature variation. As a result, in the wetter years of 2003-2004 microbiological processes after hard maturity were more intensive than those in the drier year of 2002. Meteorological conditions and grain moisture were one of the factors that affected an increase in fungi propagules from 1.2 to 11 times. It was found that 30 days after hard maturity in the wetter year 2004 the diversity of fungi in unharvested wheat grain increased. In the winter wheat grain of hard maturity there were identified 12 fungi species, and when harvested 30 days later, there were identified 22 species of fungi. With a delay in harvesting time, the diversity of potential mycotoxin producers, *Fusarium* spp. fungi, increased. At hard maturity there were identified 2 species of *Fusarium* fungi (*F. poae*, *F. sporotrichioides*), and when harvested after 30 days, there were identified 8 species (*F. poae*, *F. sporotrichioides*, *F. avenaceum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. heterosporum*, *F. incarnatum*, *F. solani*)

The differences in fungi species composition were revealed between ‘Ada’ and ‘Zentos’ varieties. In the grain of the variety ‘Zentos’ the incidence of *Alternaria alternata*, *Ulocladium oudemansii*, *Sporotrichum aurantiacum* both at optimal and delayed harvesting was lower. However, in ‘Zentos’ grain, especially in the case of late harvesting, there was identified a greater diversity of *Fusarium* fungi.

Grain damage by *Fusarium* genus fungi was more pronounced in the wetter 2003-2004 years. At late harvesting the content of *Fusarium* spp. fungi in internal grain tissue was significantly higher compared with that of grain harvested at optimal time.

The variation of the levels of mycotoxins deoxinivalenol (DON), zearalenone (ZEN) and T-2 toxin as affected by harvesting time was not revealed in 2003, however in 2004 with a delay in wheat harvesting the risks of zearalenone contamination increased.

Key words: winter wheat, harvesting time, fungi, mycotoxins.