OCCURRENCE OF *FUSARIUM* SPP. ON THE CORN KERNEL (*ZEA MAYS* L.)

Kmoch M., Šafránková I.

Department of Crop Science, Breeding and Plant Medicine, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xkmoch@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of the study was the incidence and representation of individual species *Fusarium* fungi and their determination on hybrids kernels and versions of Bt-corn hybrids grown in different production areas in the Czech Republic (CR) in 2008. In CR corn (*Zea mays* L.) is grown mainly for silage and grain as feed for livestock. Among the major pathogens of corn is *Fusarium* fungi that cause rot of collar emergence plants and straw and cob rot. Some *Fusarium* species are important producers of mycotoxins and with the toxic and carcinogenic potential negatively affecting the health of animals and humans. From areas with a high proportion of corn in crop rotation was obtained 45 samples (22 hybrids and 7 versions of Bt-hybrids - genetically modified corn). From the area Čejč (District Hodonín) 25, Medlov (District Olomouc) 6, Otrokovice-Kvítkovice (District Zlín) 6, Loštice (District Šumperk) 4 and the Jiřice u Miroslavi (District Znojmo) 4. Kernels were disinfected on surface (60 sec, 5% sodium hypochlorite), then twice rinsed with distilled water and placed in petri dishes (PM) on potato-dextrose agar (PDA), each 10 pcs/PM, 5 repetitions. Incubation was by room temperature. Isolation of pathogens from kernels was maded from 4th to 7th day and then was growing pure cultures for identification. Statistical evaluation of the frequency isolates was performed by using single factor analysis of variance and multiple comparison (Tukey-HSD, $\alpha = 0.05$) with help of the program UNISTAT 5.1. On the total number of pathogens (997 isolates) were involving *Fusarium* species 41.3% (412 isolates). Differences in the frequency isolates of fungi genus *Fusarium* in the frame of hybrids, the Bt-hybrids and hybrid versions of a given site were statistically conclusive only to the locality Čejč and Loštice among several samples. Differences between sites in the number isolates of species genus *Fusarium* occurring on individual hybrids were mostly statistically demonstrable. A higher effect on attack fungi caryopsis *Fusarium* had, in the most cases, locality than hybrids of Bt-versions of hybrids. The highest representation, i.e. 47.1% was observed by species of *Fusarium subglutinans* (*Gibberella subglutinans*), *F. verticillioides* (*Gibberella moniliformis*) – 35.3% and 14.5% for *F. graminearum* (*Gibberella zeae*). The representation of other species was very low (*F. poae* – 1.7%, *F. avenaceum* (*Gibberella avenacea*) – 1,0% and *F. culmorum* – 0,5%).

Key words: *Fusarium* spp., corn

Acknowledgments: The research project was funded by the Internal Grant Agency, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno number IG290061.

ÚVOD

Houby rodu *Fusarium* jsou významnými patogeny většiny zemědělských plodin (Širučková, Kroutil, 2007). Mohou nepříznivě ovlivnit kvantitu a kvalitu sklízené produkce. Vyvolávají hniloby vzcházejících rostlin, stébel a trouchnivění klasů. Nejvýznamnější škody vznikají po napadení klasů. Jsou příčinou výnosových ztrát, snížení klíčivosti osiva a kvality zrna.

V souvislosti s napadením zrna představuje produkce toxických sekundárních metabolitů fusarií, tzv. mykotoxinů, nebezpečí jak pro člověka, tak pro hospodářská zvířata. Onemocnění - mykotoxikózy se projevují zvracením, zažívacími potížemi, poškozením imunitního systému, poškozením plodu s následkem potratu aj. V cereáliích jsou nejvýznamněji zastoupeny trichothecenové deriváty – deoxynivalenol (DON), nivalenol (NIV) a T2 toxin. Další skupinu mykotoxinů představuje zearalenon (ZEA) a jeho deriváty, u nichž byly prokázány estrogenní účinky. Do potravního řetězce se mohou dostávat jak přímou konzumací kontaminované produkce, tak i zprostředkovaně krmivy a následně živočišnými produkty (Sýkorová et al., 2004). V posledních desetiletích se zvyšuje zájem o napadení obilnin houbami rodu Fusarium a o mykotoxiny (Benada, 2008). Různé druhy fusárií produkují odlišné mykotoxiny.

Houby rodu *Fusarium* vytvářejí dva hlavní typy konidií: makrokonidie a mikrokonidie. Makrokonidie jsou srpkovitého tvaru s různým počtem přehrádek (0 – 10). Mikrokonidie jsou zpravidla elipsovité nebo vejčité, většinou bez nebo s jednou přehrádkou. Tvoří se výhradně ve vzdušném myceliu a jsou známy pouze u některých druhů. Kromě konidií vytváří řada druhů také perzistentní útvary: chlamydospory a sklerocia. Chlamydospory jsou kulovitého tvaru, tvoří se v myceliu nebo konidiích jednotlivě, v párech, řetězcích nebo hroznech, terminálně, laterálně nebo interkalárně. Sklerocia se vytvářejí v myceliu jednotlivě nebo ve skupinách, jsou zpravidla okrouhlého tvaru a dosahují velikosti většinou do jednoho milimetru, vzácně i více. Řada druhů fusárií vytváří také teleomorfní stádium, perithecia s vřecky a askosporami (Leslie et al., 2006).

Systematika v rámci rodu *Fusarium* je založena na morfologii makrokonidií, mikrokonidií, chlamydospor, konidioforů, rychlosti růstu kolonií houby, pigmentaci vzdušného mycelia a substrátu při kultivaci in vitro (Širučková, Kroutil, 2007, Leslie et al., 2006).

Během let dochází ke změnám zastoupení jednotlivých druhů rodu *Fusarium*. Proto je nutná determinace druhu fuzária. Patogeny rodu *Fusarium* na palicích kukuřice jsou díky četným druhům dosud málo mezi sebou rozlišitelné.

Cílem práce bylo stanovení výskytu a zastoupení jednotlivých druhů hub rodu *Fusarium* a jejich determinace na obilkách hybridů a Bt-verzí hybridů kukuřice seté (*Zea mays L.*) pěstované v různých pěstitelských oblastech v České republice (ČR) v roce 2008.

MATERIÁL A METODIKA

Z oblastí s vysokým podílem kukuřice v osevním sledu bylo získáno 45 vzorků (22 hybridů a 7 Bt-verzí hybridů – geneticky modifikované kukuřice). Z lokality Čejč (okres Hodonín) 25 vzorků, Medlov (okres Olomouc) 6 vzorků, Otrokovice-Kvítkovice (okres Zlín) 6 vzorků, Loštice (okres Šumperk) 4 vzorky a Jiřice u Miroslavi (okres Znojmo) 4 vzorky. Obilky byly povrchově dezinfikovány (60 sec, 5 % chlornan sodný), následně dvakrát opláchnuty destilovanou vodou a umístěny do Petriho misek (PM) na bramboro-dextrózový agar (PDA), vždy 10 ks/PM, 5 opakování. Inkubace probíhala při laboratorní teplotě. Izolace patogenů z obilek byla provedena 4. – 7. den a následně vypěstovány čisté kultury pro identifikaci. K rozlišení jednotlivých druhů fusárií byla použita kultivační mikroskopická metoda. Pro determinaci byly využity především morfologické znaky makrokonidií: jejich celkový tvar (nejvýznamnější je tvar koncových buněk), počet přehrádek (kolísá), velikost (kolísá, potřeba statistické vyhodnocení, velikost kolísá i podle živné půdy), jejich barva. Dále byly pro identifikaci druhů využity mikrokonidie (mají různé tvary, zpravidla jsou jednobuněčné, u některých druhů i dvoubuněčné, tvořené někdy v řetězcích), nosiče konidií a tvar kolonie houby.

Statistické vyhodnocení četnosti izolátů ve vzorcích bylo provedeno pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu a mnohonásobného porovnávání (Tukey-HSD; $\alpha = 0,05$) za použití programu UNISTAT 5.1.

Hybridy a Bt-verze hybridů zařazené do pokusu

Čejč: Saxo, Bergxxon, Thermo, DKC 3946 YG, DKC 3511, DKC 3512 YG, DK 440, DK 4422 YG, DK 4490, DK 5542, Kladdus, Kaifus, Havane, KWS 2376, Kursus, KWS 1393, Atletico, KXA 6338 Symbol, KXA 6471, Karas YG, PR 38 A 24, PR 38 A 25 YG, PR 37 N 01, X 6 K 247

Medlov: DKC 3420, DKC 3421 YG, DK 315, DKC 3946 YG, DKC 3511, DKC 3512 YG

Otrokovice: DK 440, DK C 3421 YG, DK 315, DKC 3946 YG, DKC 3511, DKC 3512 YG

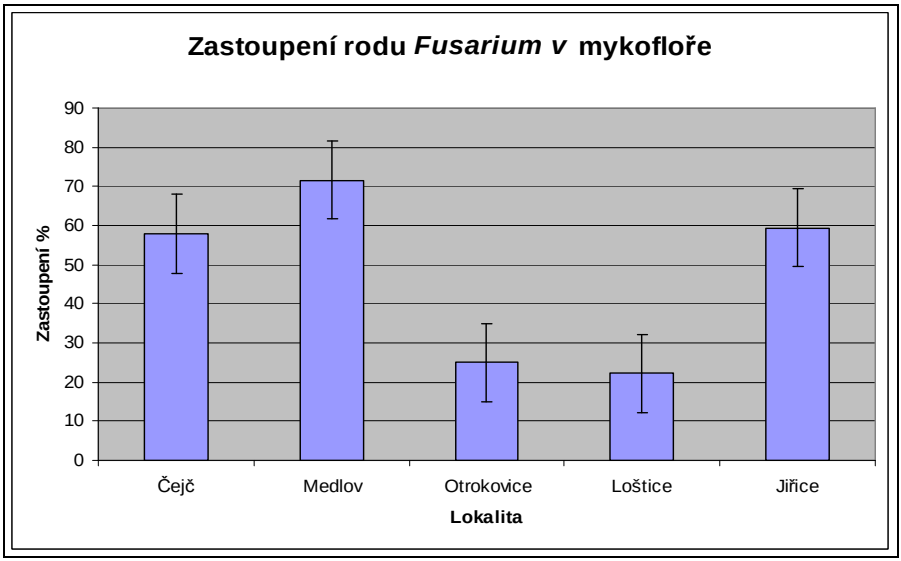
Loštice: DK 440, DKC 3946 YG, DKC 3512 YG, DKC 3511

Jiřice u Miroslavi: DK 440, DKC 4422 YG, DKC 3512 YG, DKC 3511

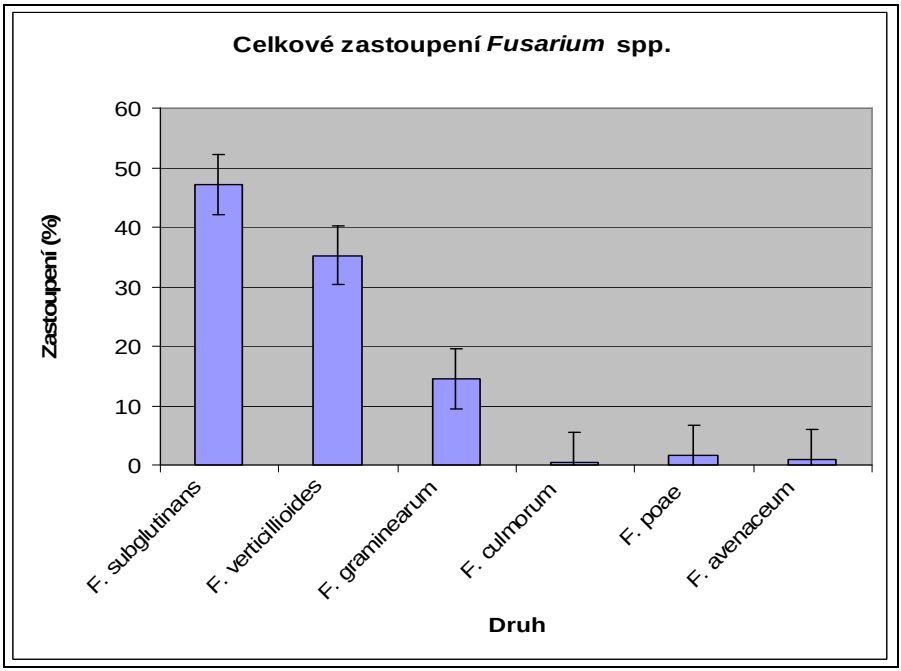
VÝSLEDKY A DISKUZE

Na celkovém množství patogenů (997) se podílely druhy rodu *Fusarium* 41,3 % (412 izolátů). Rozdíly v četnosti izolátů hub rodu *Fusarium* v rámci hybridů, mezi hybridy a Bt-verzemi hybridů na dané lokalitě byly statisticky průkazné pouze na lokalitě Čejč a Loštice mezi několika vzorky. Rozdíly mezi lokalitami v počtu izolátů druhů rodu *Fusarium* vyskytujících se na jednotlivých hybridech byly většinou statisticky průkazné (graf 1). Ve většině případů však vyšší vliv na napadení obilek houbami rodu *Fusarium* měly lokality než hybridy nebo Bt-verze hybridů. Nejvyšší zastoupení, tj. 47,1 % bylo zjištěno u druhu *Fusarium subglutinans* (*Gibberella subglutinans*), *Fusarium verticillioides* (*Gibberella moniliformis*) - 35,3 % a 14,5 % u *Fusarium graminearum* (*Gibberella zeae*). Zastoupení dalších druhů bylo velmi slabé (*Fusarium poae* 1,7 %, *Fusarium avenaceum* (*Gibberella avenacea*) - 1,0 % a *Fusarium culmorum* – 0,5 % (graf 2). Druhové spektrum a zastoupení jednotlivých druhů se lišilo mezi lokalitami.

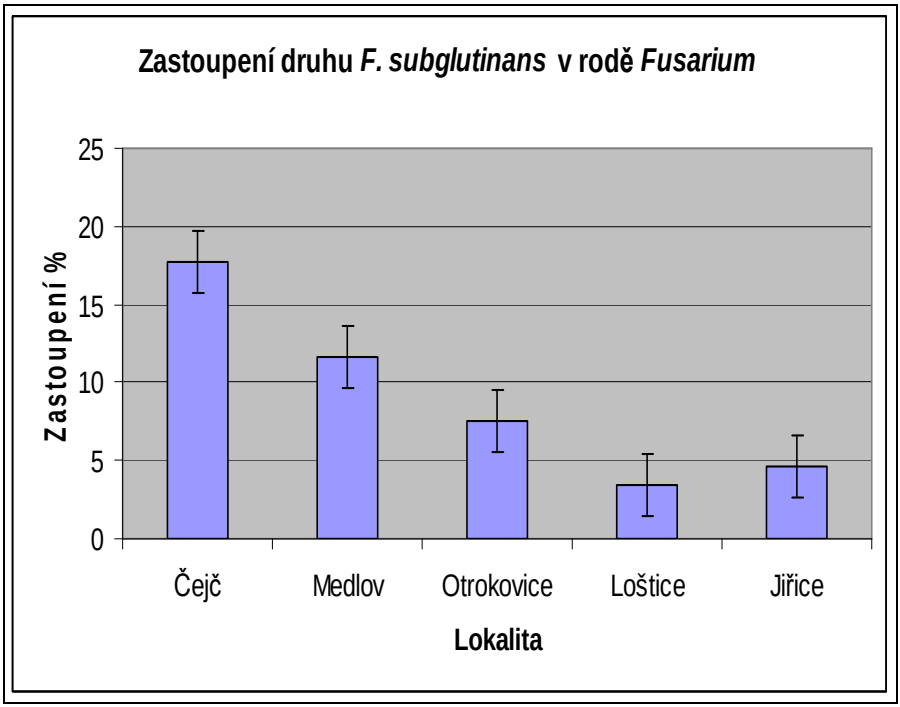
Graf 1 Zastoupení rodu Fusarium v celkové mykofloře na lokalitách



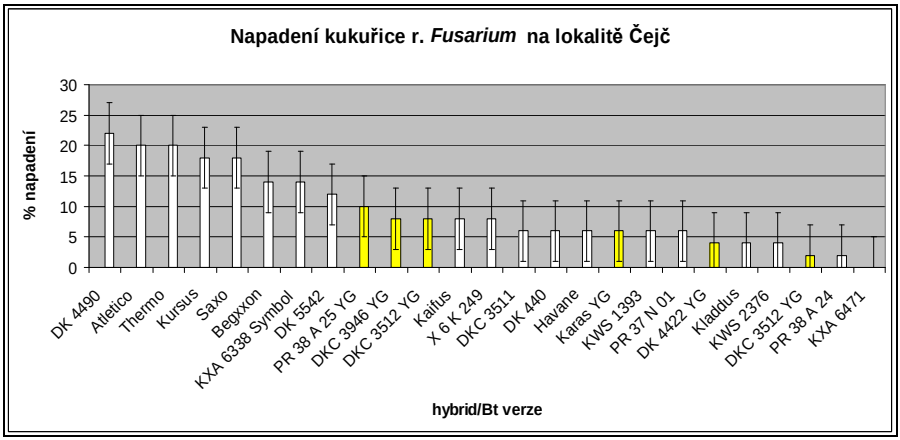
Graf 2 Celkové zastoupení Fusarium spp.



Graf 3 Zastoupení F. subglutinans v rodě Fusarium

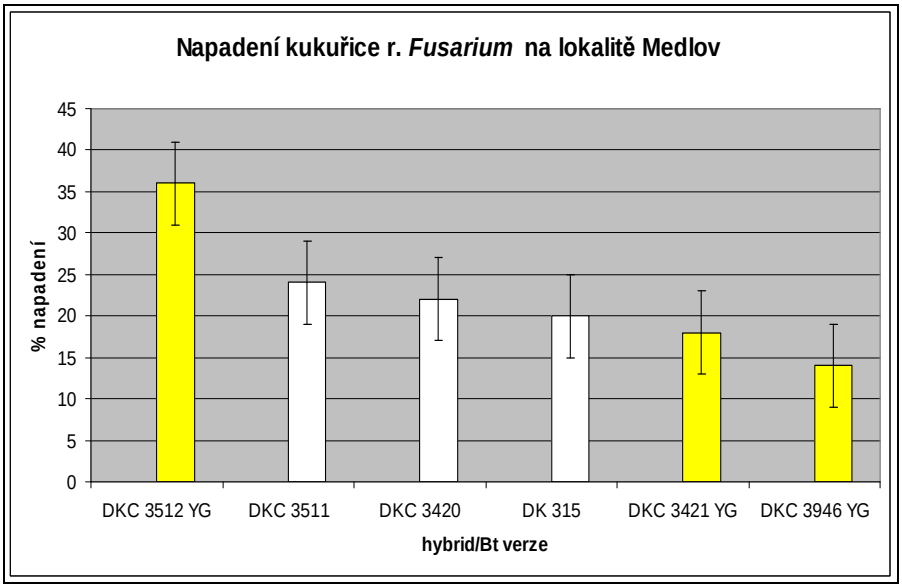


Graf 4 Napadení kukuřice r. Fusarium na lokalitě Čejč



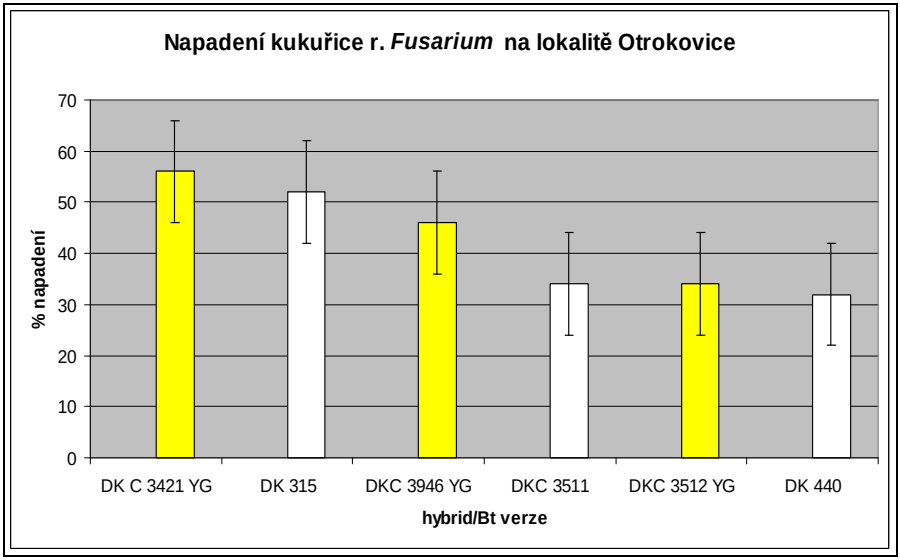
Žluté sloupce označují Bt-verze hybridů.

Graf 5 Napadení kukuřice r. Fusarium na lokalitě Medlov



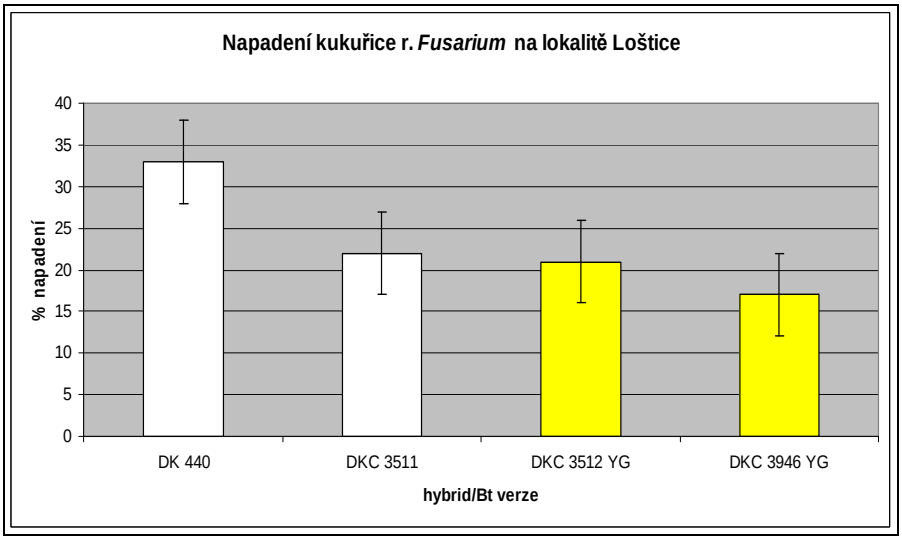
Žluté sloupce označují Bt-verze hybridů.

Graf 6 Napadení kukuřice r. Fusarium na lokalitě Otrokovice



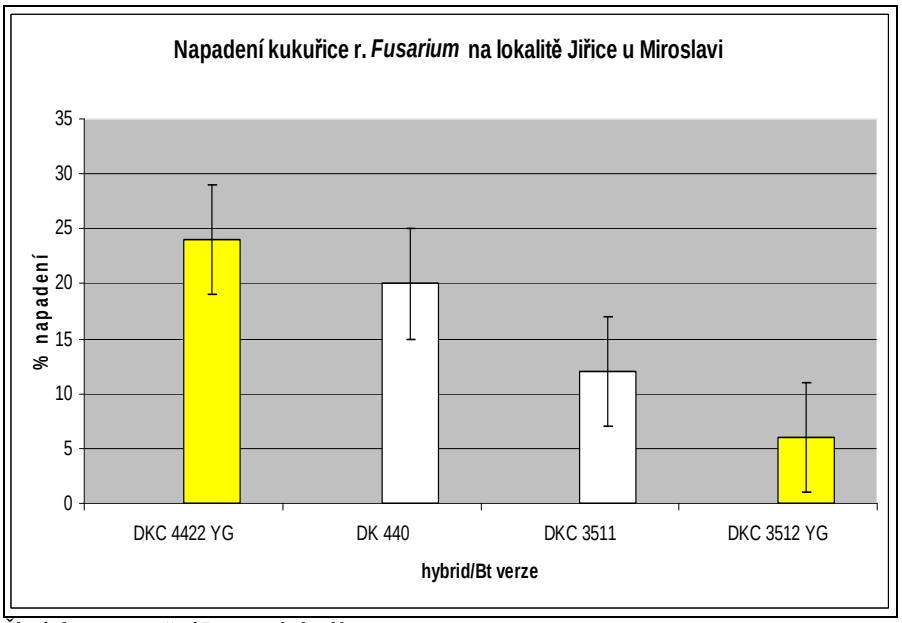
Žluté sloupce označují Bt-verze hybridů.

Graf 7 Napadení kukuřice r. Fusarium na lokalitě Loštice



Žluté sloupce označují Bt-verze hybridů.

Graf 8 Napadení kukuřice r. Fusarium na lokalitě Jiřice u Miroslavi



Žluté sloupce označují Bt-verze hybridů.

ZÁVĚR

1. Nejvyšší zastoupení, tj. 47,1 % bylo zjištěno u druhu *Fusarium subglutinans* (*Gibberella subglutinans*), *Fusarium verticillioides* (*Gibberella moniliformis*) – 35,3 % a 14,5 % u *Fusarium graminearum* (*Gibberella zeae*).

2. Zastoupení dalších druhů bylo velmi slabé (*Fusarium poae* 1,7 %, *Fusarium avenaceum* (*Gibberella avenacea*) 1,0 %, *Fusarium culmorum* 0,5 %).

3. Rozdíly v četnosti izolátů hub rodu *Fusarium* v rámci hybridů, mezi hybridy a Bt-verzemi hybridů na dané lokalitě byly statisticky průkazné pouze na lokalitě Čejč a Loštice mezi několika vzorky.

4. Rozdíly mezi lokalitami v počtu izolátů druhů rodu *Fusarium* vyskytujících se na jednotlivých hybridech byly většinou statisticky průkazné.

5. Lokalita měla vyšší vliv na napadení rodem *Fusarium* než hybrid nebo Bt-verze hybridu.

6. Ve většině případů však vyšší vliv na napadení obilek houbami rodu *Fusarium* měla lokalita než hybridy nebo Bt-verze hybridů.

7. Mezi lokalitami docházelo ke změnám zastoupení *Fusarium spp.*

LITERATURA

Benada, J. *Rozlišování druhů fuzárií v obilninách.* Rostlinolékař (1): 29, 2008.

Leslie, J., F., Summerell, B., A., Bullock, S. *The Fusarium Laboratory Manual*. Oxford: Oxford Blackwell Publishing, 2006. 388 s.

Sýkorová, S. *Mykotoxiny – stav výskytu v zemědělských surovinách a krmivech v ČR a v Evropě. Praha*: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2004. 35 s.

Širučková, I., Kroutil, P. Fuzariózy na obilninách (*Fusarium spp.*). Praha: Ministerstvo zemědělství ve spolupráci se Státní rostlinolékařskou správou, 2007. 8 s.