

JERZY CHEŁKOWSKI, ANGELO VISCONTI *, PIOTR GOLIŃSKI **, HANNA KWAŚNA ***

Wytwarzanie womitoksyny i zearalenonu przez wyosobnione ze zbóż krajowych grzyby rodzaju *Fusarium*

Katedra Fitopatologii Wydziału Ogrodniczego SGGW AR, ul. Nowoursynowska 166, 02-766 Warszawa

* Istituto Tossine e Micotossine da Parassiti Vegetali, CNR, via G. Amendola 197f, 70 126 Bari, Italia

** Katedra Chemii AR, ul. Wojska Polskiego 75, 60-625 Poznań

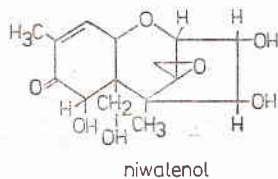
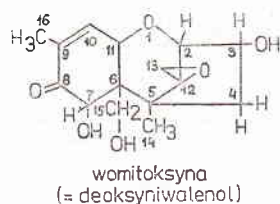
*** Katedra Fitopatologii Lesnej, Wydziału Lesnego AR, ul. Wojska Polskiego 71c, 60-625 Poznań

W roku 1973 odkryto w USA w porażonym ziarnie kukurydzy związek, który nazwano womitoksyną. Ziarno to w okresie bardzo chłodnego i wilgotnego lata w 1972 r. uległo silnemu porażeniu przez grzyb *Fusarium graminearum* (stadium doskonałe *Gibberella zeae*), a przy karmieniu nim trzody obserwowano intensywne wymioty i zanik łaknienia zwierząt (7, 19, 20, 21). W tym samym czasie w Japonii z ziarna jęczmienia paszowego powodującego podobne objawy wyizolowano związek nazwany deoksyniwalenolem, który okazał się identyczny z womitoksyną (21). Podobne zachorowania były rejestrowane w gospodarstwach produkujących trzodę w USA od 1919 r., z bardzo dużym nasileniem w roku 1965, a w Japonii od 1890 r., z dużym nasileniem w roku 1963 (7, 19, 21).

Womitoksyna wywołuje przede wszystkim wymioty i brak łaknienia, a szczególnie wrażliwa na działanie tej toksyny okazała się trzoda chlewna (16, 17, 18, 19, 20, 21, 23). Zawartość womitoksyny wynosząca 2 mg/kg paszy wywołuje zauważalne objawy u trzody, a ilości większe doprowadzić mogą do padnięcia zwierząt (17). Drób okazał się mniej wrażliwy — zarówno kurczęta jak kury noski znoszą bez ujemnych efektów zawartość womitoksyny 4—5 mg/kg paszy, przy czym nie stwierdzono jej kumulacji w wątrobie, mięśniach i jajach (9). Przeżuwacze — bydło i owce, nie wykazują objawów chorobowych przy zawartości womitoksyny do 8 mg/kg paszy (17).

Występowanie womitoksyny oraz zatrucia trzody tym metabolitem rejestrowano w szeregu innych krajach: w Austrii (1, 16), Włoszech (2), Wielkiej Brytanii (10), Francji (12), RFN (13), Korei i Szwecji (7), Afryce Południowej (14, 18).

Pod względem chemicznym womitoksyna, należąca do grupy epoksydów seskwiterpenowych, a ściślej trichotecenowych, jest 3a, 7a, 15 trójhydroksy, 12, 13 epoksytrichoteceno 9-en-8-ketonem o wzorze



Wstępne badania własne nad grzybami z ziarna pszenicy pozwoliły stwierdzić, że szczepy z gatunku *F. culmorum* wytwarzały deoksyniwalenol (=womitoksynę) i jego 3 acetylo-pochodną (3, 6). Celem obecnej pracy jest ocena zdolności do tworzenia tych toksyn przez grzyby wyosobnione ze zbóż w różnych rejonach Polski i określenie potencjalnych możliwości zanieczyszczenia zbóż womitoksyną.

Materiał i metody

Przebadano 149 szczepów grzybów rodzaju *Fusarium*, należących do 16 gatunków. Szczepy te wyosobniono z ziarna i roślin pszenicy (52), żyta (13), pszenżyta (19), owsa (7), jęczmienia (26) i kukurydzy (32) w latach 1980—1983. W celu określenia zdolności tych grzybów do tworzenia womitoksyny szczepy hodowano na skosach pożywki glukozowo-ziemniaczanej do uzyskania obfitego wzrostu grzybnia (14 dni), a następnie zaszczerpiono hodowlę ze skosu 50 g wyjałowionego ziarna pszenicy, zawierającego 40% wody. Kulturę na pszenicy hodowano w 22°C przez 4 tygodnie, codziennie przetrząsając dla uniknięcia zbrzylenia. Po zakończonej hodowli w przerośniętym grzybnia ziarnie oznaczono zawartość womitoksyny i zearalenonu metodą opisaną przez Bottalico i in. (2).

Wyniki i omówienie

W poprzedniej pracy (4) stwierdzono częste występowanie grzybów rodzaju *Fusarium* w ziarnie zbóż — pszenicy, żyta, jęczmienia i kukurydzy, choć zanieczyszczenie prób ziarna metabolitem tych grzybów — zearalenonem nie było wysokie. Wyniki obecnej pracy wskazują na zdolność do wytworzenia przez tę samą grupę grzybów innych, silnie toksycznych metabolitów — deoksyniwalenolu (womitoksyny) i jego 3 acetylo-pochodnej. Womitoksynę tworzyły tylko grzyby należące do dwóch gatunków: *Fusarium culmorum* i *F. graminearum* (tab. 1). Na uwagę zasługuje fakt, że grzyby gatunku *F. culmorum* tworzyły więcej 3 acetylo-deoksyniwalenolu niż samego deoksyniwalenolu (womitoksyny). Toksyczność obydwu tych związków jest bardzo zbliżona, biorąc pod uwagę ich działanie podrażniające na słuzówkę i wymiotne, stąd dla oceny ogólnej toksyczności brać należy sumę tych dwu związków. Żaden z badanych grzybów nie tworzył innych pochodnych, takich, jak niwalenol i fuzarenon (4 acetylo-niwalenol), produkowanych przez te grzyby w Japonii (11). Równocześnie z womitoksyną wytwarzany był zearalenon, co po-

Tab. 1. Zdolność tworzenia womitoksyny (DON), 3 acetylo womitoksyny (3 AcDON) i zearalenonu przez grzyby rodzaju *Fusarium* zasiedlające ziarno i rośliny zbóż

Gatunek	Liczba izolatów		Maksymalne stężenia tworzonej toksyny (mg/kg)		
	badanych	tworzących toksynę	DON	3 Ac DON	Zearalenon
<i>F. culmorum</i>	47	43	80	208	750
<i>F. graminearum</i>	5	3	77	4	282
<i>F. avenaceum</i>					
<i>F. farthrosporioides</i>					
<i>F. equiseti</i>					
<i>F. flocciferum</i>					
<i>F. solani</i>					
<i>F. moniliforme</i>					
<i>F. subglutinans</i>					
<i>F. nivale</i>					
<i>F. oxysporum</i>					
<i>F. poae</i>					
<i>F. sambucinum</i>					
<i>F. semitectum</i>					
<i>F. sporotrichioides</i>					
<i>F. tricinctum</i>					

nie tworzyły womitoksyny (DON) ani 3AcDON

twierdziło wyniki pracy poprzedniej (4). Grzyby pozostałych 14 gatunków nie tworzyły womitoksyny i jej pochodnych ani zearalenonu (tab. 1).

Biorąc pod uwagę fakt, że niemal co trzeci uzyskany ze zbóż grzyb rodzaju *Fusarium* należał do gatunku *F. culmorum*, można sądzić, o częstym występowaniu grzybów mogących tworzyć womitoksynę w ziarnie zbóż. Rozwój tych grzybów może następować już w polu — porażają one kłosa zbóż, głównie pszenicy, jęczmienia i żyta, powodują zmniejszenie wielkości wytwarzających się ziarniaków, a tym samym plonu. Stwierdzono, że toksyny obecne są głównie w ziarnach drobnych, poślednich, które można odsiać od ziarna dorodnego (21). Infekcja kłosów o większym nasileniu stwierdzana jest w latach o korzystnych warunkach meteorologicznych. Są rejon geograficzne o klimacie sprzyjającym porażeniu zbóż przez fuzaria (5). W Polsce zagadnienie to nie jest jeszcze opracowane pod kątem nasilenia fuzariozy kłosów zbóż i kolb kukurydzy, a tym bardziej nie jest znane realne zagrożenie występowaniem wymienionych toksyn w ziarnie paszowym. Częste występowanie tworzących womitoksynę grzybów wskazuje na możliwość tworzenia się tej toksyny w sprzyjających warunkach wilgotności, tj. o ile zawartość wody będzie większa od 22% — w szerokim zakresie temperatur od 10—30°C, szczególnie intensywnie w temperaturze 20—30°C (2).

W toku są prace nad zawartością toksyn fuzaryjnych w porażonych próbach pszenicy i kukurydzy, zebranych w różnych regionach kraju w 1984 roku. Określenie realnego zagrożenia zbóż paszowych tymi toksycznymi metabolitami wymaga kilkuletnich, dalszych badań. Warto podkreślić, że ilości womitoksyny tworzone przez grzyby *F. graminearum* lub *F. culmorum* w czasie silnej infekcji ziarniaków w polu są wyższe, niż uzyskiwane w warunkach hodowli laboratoryjnej (23).

Piśmiennictwo

- Bottalico A., Lerario P., Visconti A.: *Phytopath. Medit* 20, 1, 1981.
- Bottalico A., Lerario P., Visconti A.: *Microbiol. Alim. Nutr.* 1, 133, 1983.
- Chełkowski J., Visconti A., Mańka M.: *Die Nahrung* 28, 493, 1984.
- Chełkowski J., Goliński P., Radomska W., Wiewiórowska M.: *Medycyna Wet.* 39, 481, 1983.
- Chełkowski J., Mańka M.: *Nowe Rol.* 2, 5, 1983.
- Chełkowski J., Visconti A., Solfrizzo M., Bottalico A.: *Phytopath. Medit.* 23, 43, 1984.
- Ciegler A.: *J. Fd. Prot.* 41, 399, 1978.
- Dohi Y., Watanugi F., Kitai H., Kosaka K., Ichinoe M.: *Ohha K., J. Fd. Hyg. Soc. Japan* 25, 1, 1984.
- El-Banna A. A., Hamilton R. M. G., Scott P. M., Trenholm H. L.: *J. Agric. Fd. Chem.* 31, 1381, 1983.
- Gilbert J., Shepherd M. J., Startin J. R.: w *Toxicogenic fungitoxins and health hazard*, Kodansha Ltd, 1984, s. 209.
- Ichinoe M., Kurata H., Suglura Y., Ueno Y.: *Appl. Environ. Microbiol.* 46, 1364, 1983.
- Jemmal M., Ueno Y., Ishii K., Fraysstinet C., Etienne M.: *Experientia* 34, 1333, 1978.
- Marasas W. F. O., Leistner L., Hofmann G., Eckardt C.: *Europ. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 7, 289, 1979.
- Marasas W. F. O., van Rensburg S. J., Mirocha C. J.: *J. Agric. Fd. Chem.* 27, 1108, 1978.
- Scott P. M., Lau P. Y., Kanhere S. R.: *J. Ass. Off. Anal. Chem.* 64, 1364, 1981.
- Shuh M., Glawitschnig E., Leibetseder J.: *Proc. V. IUPAC Symp. on Mycotoxins and Phycotoxins*, Vienna, 5—7, September, 1982, S. 118.
- Schneider N. R., Daupnik B. J., Matlern J.: *Intern. Mycol. Symp. Univ. Sydney*, 12—15 August, 1983, P15.
- Thiel P. G., Meyer C. J., Marasas W. F. O.: *J. Agric. Fd. Chem.* 30, 308, 1982.
- Vasander R. F., Ciegler A., Jensen A. H.: *Appl. Microbiol.* 26, 1008, 1973.
- Vasander R. F., Ciegler A., Jensen A. H.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 34, 105, 1977.
- Yoshizawa T., Morooka N.: w *Mycotoxins in human animal health*, J. V. Rordicks, C. W. Hesselstine and M. A. Mehلمان (ed.) *Pathotox Publ.*, Park Forest Ill., 1977, s. 309-321.
- Young J. C., Fulcher R. G., Hayhoe J. H., Scott P. M., Dexter J. E.: *J. Agric. Fd. Chem.* 32, 659, 1984.
- Young J. G., Fulcher R. G.: *Cereal Foods World* 29, 725, 1984.

Adres autora: doc. dr hab. Jerzy Chełkowski, ul. Wiołnowa 5/54, 02-766 Warszawa

Хелковский Е., Висконти А., Голиньский П., Квашна Г. — Образование vomitоксина и зearаленона изолированными из отечественных зерновых грибами из рода *Fusarium*

Исследовали 149 штаммов грибов из рода *Fusarium* (16 видов), изолированных из зерновых в 1980—1983 гг., относительно способности к образованию vomitоксина (деоксиниваленола) и зearаленона. Отметим, что 43 штамма *F. culmorum* и 3 *F. graminearum* показывали способность к образованию митоготоксинов: деоксиниваленола (вомитоксина) с производительностью до 80 мг/кг, 3 ацетилдеоксиниваленола до 208 мг/кг и зearаленона до 750 мг/кг автоклавированного пшеничного зерна. Заражение зерна зерновых зитими 2 видами грибов будет связано с появлением vomitоксина в зерне.

Chełkowski J., Visconti A., Goliński P., Kwaśna H. — The ability of *Fusaria* isolated from domestic cereals to produce vomitoxin and zearalenone

During 1980—83 149 strains of *Fusaria* (16 species) were isolated and then examined for the ability to produce vomitoxin (deoxynivalenol) and zearalenone. It was found that 43 strains of *F. culmorum* and 3 strains of *F. graminearum* produced deoxynivalenol with yield up to 80 mg/kg and 3 acetyl-deoxynivalenol with yield up to 208 mg/kg, and zearalenone in yield up to 750 mg/kg of autoclaved wheat kernels. Infection of cereal grains by these two species of *Fusaria* will be connected with occurrence of vomitoxin in grains.