

## THE EFFECT OF FORECROP ON OCCURRENCE OF FUSARIUM TRICHOTHECENS IN SPRING BARLEY CULTIVATED IN ORGANIC PRODUCTION SYSTEMS

### Summary

The aim of this work was to determine occurrence of fungi from genus *Fusarium* and produced by them mycotoxins in spring barley cv. Progress cultivated in organic and conventional production systems after onion, carrot and cabbage. The study were carried out in the years 2006-2007. Macroscopic and mycological analysis of ears healthiness were performed during milk maturity of grain. Kernels of barley after grinding were analyzed on presence of mycotoxins: deoxynivalenol, 3-acetyldeoxynivalenol, 15-acetyldeoxynivalenol, T-2, HT-2 toxins, deoxyscirpenol, niwalenol, fuzarenon X, using gas chromatography coupled with ECD detector. The clearing of samples was made according the SPE method. In mycological analysis *Fusarium poae* was isolated most frequently from kernels. In the case of both systems in the year 2006 all analyzed samples included deoxynivalenol. Conventional barley was much less contaminated by all analyzed mycotoxins than organic. The smallest total content of mycotoxins was found in barley cultivated after onion: in conventional system it amounted 0,32 mg/kg and in organic system 10,0 mg/kg. The largest total content of mycotoxins was found in organic barley after cabbage and it amounted 12,64 mg/kg, and in conventional system after carrot, which amounted 8,42 mg/kg. In 2007 the content of mycotoxins in kernels of barley was lower in comparison with season 2006 as the result of weather conditions. In 2006 heavy rainfall occurred just before harvest, which caused development of *Fusarium* spp. on ears of barley and production of mycotoxins. In 2007 weather conditions were not favourable for development of fungi from genus *Fusarium*. In this year kernels of barley were less contaminated by mycotoxins in organic system of production than in conventional. Most beneficial forecrop for barley in aspect of mycotoxins reduction proved to be onion. More effective action of onion as forecrop in organic production can be related to larger biological activity of the plant in this production system.

## WPŁYW PRZEDPŁONU NA WYSTĘPOWANIE TRICHOTECENÓW FUZARYJNYCH W JĘCZMIENIU JARYM UPRAWIANYM W EKOLOGICZNYM SYSTEMIE PRODUKCJI

### Streszczenie

Celem pracy było określenie występowania grzybów z rodzaju *Fusarium* i tworzonych przez nie mikotoksyn w jęczmieniu jarym odmiany Progress uprawianym w systemach produkcji ekologicznej i konwencjonalnej po cebuli, marchwi i kapuście. Zmielone ziarno analizowano na obecność mikotoksyn trichotecenowych: deoksyniwalenolu (DON), 3-acetyldeoksyniwalenolu (3-AcDON), 15-acetyldeoksyniwalenolu (15-AcDON), T-2 toksyny, HT-2 toksyny, deoksyscirpenolu (DAS), niwalenolu (NIV), fuzarenonu X, przy użyciu chromatografu gazowego z detektorem ECD. Z ziarniaków jęczmienia jarego wyodrębniano głównie *Fusarium poae*. Analiza chromatograficzna ziarna z 2006 roku wykazała obecność deoksyniwalenolu (DON) we wszystkich próbkach ziarna jęczmienia z obu systemów produkcji. Konwencjonalny jęczmień był mniej zanieczyszczony przez analizowane mikotoksyny niż ekologiczny. Najmniejszą ogólną zawartość mikotoksyn stwierdzono po cebuli i wynosiła ona w konwencjonalnym systemie produkcji 0,32 mg/kg, a w ekologicznym 10,0 mg/kg. Największą zawartość mikotoksyn zanotowano w ekologicznym jęczmieniu po kapuście i wynosiła ona 12,64 mg/kg, a w konwencjonalnym systemie po marchwi i wynosiła 8,42 mg/kg. W 2007 roku zawartość mikotoksyn była niższa w porównaniu z sezonem 2006 na co miały wpływ warunki pogodowe mniej sprzyjające rozwojowi grzybów w drugim roku badań. W 2007 roku ziarno jęczmienia ekologicznego było w mniejszym stopniu zanieczyszczone przez mikotoksyny niż konwencjonalnego. Najkorzystniejszym przedplonem dla jęczmienia w aspekcie ograniczania mikotoksyn okazała się cebula. Efektywniejsze działanie cebuli jako przedplonu dla jęczmienia w ekologicznym systemie produkcji mogło być związane z większą biologiczną aktywnością cebuli w tym systemie produkcji.

### 1. Wstęp i cel pracy

Mikotoksyny produkowane przez grzyby są jednymi z najbardziej niebezpiecznych związków, które zanieczyszczają produkty zbożowe. Najczęściej występującymi mikotoksynami w zbożach są trichoteceny produkowane przez grzyby z rodzaju *Fusarium*. Grzyby te powodują fuzariozę kłosów zbóż, a wśród nich szczególnie następujące gatunki: *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. crookwellense*, *F. avenaceum*, *F. poae* i *Microdochium nivale*. Spośród wymienionych gatunków tylko *Microdochium nivale* nie jest producentem mikotoksyn. W

niektórych sytuacjach istotne znaczenie w powodowaniu fuzariozy kłosów posiadają także *F. sporotrichioides*, *F. equiseti* oraz *F. verticillioides* (Nicholson i in., 2003). Wśród trichotecenów wyróżnia się mikotoksyny typu A i typu B. Trichoteceny typu A takie jak T-2, HT-2, diacetoxyscirpenol (DAS) i neosolaniol (NEO) są istotnie bardziej toksyczne niż trichoteceny typu B do których należy deoxynivalenol (DON) i nivalenol [2].

Spośród zbóż uprawianych w naszym kraju jęczmień należy do bardzo podatnych na porażenie przez toksynotwórcze grzyby z rodzaju *Fusarium*. Zboża uprawiane w systemie produkcji ekologicznej nie są chronione za po-

mocą chemicznych preparatów przeciwgrzybowych, sądzi się więc że rośliny te są bardziej narażone na zanieczyszczenia przez mikotoksyny niż w systemie produkcji konwencjonalnej. Z drugiej strony liczne informacje z piśmiennictwa wskazujące na mniejsze zawartości mikotoksyn w zbożach lub ich produktach pochodzących z uprawy ekologicznej w porównaniu z konwencjonalną, sugerują że czynniki biologiczne takie jak następstwo roślin, sposób żywienia i inne mogą odgrywać w tym przypadku ważną rolę.

Celem pracy było określenie występowania grzybów z rodzaju *Fusarium* i tworzonych przez nie mikotoksyn w jęczmieniu jarym odmiany Progress uprawianym w systemach produkcji ekologicznej i konwencjonalnej po trzech różnych przedplonach tj. cebuli, marchwi i kapuście.

## 2. Materiał i metody

Badania przeprowadzono w latach 2006-2007. Materiał do badań stanowił jęczmień jary odmiany Progress uprawiany w systemach produkcji ekologicznej i konwencjonalnej w doświadczeniu agrotechnicznym zaprojektowanym w Katedrze Ekologii Rolniczej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

W obu systemach uprawy zastosowano cebulę, marchew i kapustę jako rośliny przedplonowe dla jęczmienia. W systemie konwencjonalnym stosowano nawożenie mineralne w ilości 100, 80, 120 kg N:P:K na 1 ha. W systemie ekologicznym rośliny nawożono kompostem w dawce 15 ton na ha.

Do wyosabniania grzybów zasiedlających analizowany materiał zastosowano metodę szalkową. Wyizolowane grzyby oznaczano do gatunku posługując się kluczami i monografiami podanymi przez Solarską [4].

Analizę mikotoksyn przeprowadzono łącznie w ziarnie z 24 prób jęczmienia, po 8 prób po każdym przedplonie. Ziarno mielono w młynku laboratoryjnym ultraśrodkowym Retzch ZM 200 (oczko siatki 0,1 mm). Następnie pobierano 5 g zmielonego ziarna i analizowano na obecność mikotoksyn trichotecenowych: deoksyniwalenolu (DON), 3-acetylodeoksyniwalenolu (3-AcDON), 15-acetylodeoksyniwalenolu (15-AcDON), T-2 toksyny, HT-2 toksyny, deoksyscirpenolu (DAS), niwalenolu (NIV), fuzarenonu X, za pomocą chromatografii gazowej według procedury podanej przez Valle-Algarra i in. [6].

Do oczyszczania próbek wykorzystano kolumny MycoSep 225 Trich firmy Romer Laboratories, Union, MO, USA. Ekstrakt filtrowano przez złożę kolumny wg instrukcji producenta. Następnie pobierano po 2 ml filtratu do fiołki i suszono pod strumieniem azotu.

Do wysuszonej próby dodano 100 µl roztworu 2 mg/l DMAP (4-dimetyloaminopirydyna) w mieszaninie toluenu-acetonitrylu (80:20) i 50 µl PFPA. Zamknięte próbki ogrzewano przez 60 min w 60°C. Po ochłodzeniu fiołek z próbami dodawano do nich po 1 ml 3% roztworu wodnego NaHCO<sub>3</sub> i następnie wstrząsano przez 15 sekund. W roztworze wydzielają się dwie warstwy. Materiał z górnej warstwy (organicznej) był pobierany do analizy chromatograficznej (GC-ECD).

Rozdział trichotecenów przeprowadzono przy użyciu chromatografu gazowego Varian CP-3800 z detektorem ECD i kolumny VF-1ms 30Mx032,MM ID DF=0,25 firmy Varian. Temperatura komory dozownika wynosiła 250°C a detektora 300°C.

W analizie chromatograficznej wykorzystano następujący program temperatury pieca: 90°C przez 1 min, przyrost 40°C/min do 160°C, 3°C/min do 173°C, 2°C/min do 240°C, 40°C/min do 270°C, 270°C przez 1 min. Jako gazu nośnego użyto azotu przy przepływie 1 ml/min.

## 3. Wyniki i dyskusja

W 2006 roku w czerwcu i lipcu zaobserwowano niedobór opadów, a w sierpniu przed zbiorami wystąpiły obfite opady deszczu. W 2007 roku w maju, czerwcu i lipcu suma opadów przewyższała średnią sumę wieloletnią dla tych miesięcy, natomiast w sierpniu zanotowano niedobór opadów (tab. 1).

Ocena makroskopowa kłosów i ziarniaków jęczmienia przeprowadzona w obydwu latach badań nie wykazała typowych objawów fuzariozy na kłosach, ani na ziarniakach. W wyniku analizy mikologicznej ziarniaków zarówno jęczmienia ekologicznego jak i konwencjonalnego wyodrębniano z ziarna w tych sezonach wyłącznie *Fusarium poae*, przy czym znacznie więcej izolatów tego grzyba izolowano w 2007 roku (tab. 2). *Fusarium poae* jest w ostatnich latach uznawany za głównego patogena fuzariozy kłosów zbóż uprawianych w Wielkiej Brytanii, Irlandii i w Polsce [1, 5, 7].

Ponadto z ziarniaków jęczmienia z obu systemów uprawy izolowano licznie grzyby z rodzajów *Dreschlera* i *Alternaria*. Większą liczbę izolatów grzybów z rodzaju *Alternaria* wyodrębniono z ziarniaków jęczmienia ekologicznego (tab. 2).

Wszystkie próbki jęczmienia jarego uprawianego w obu systemach w 2006 roku zawierały deoksyniwalenol. Uwzględniając analizowane mikotoksyny znacznie mniej zanieczyszczony nimi był jęczmień konwencjonalny (rys. 1, 2).

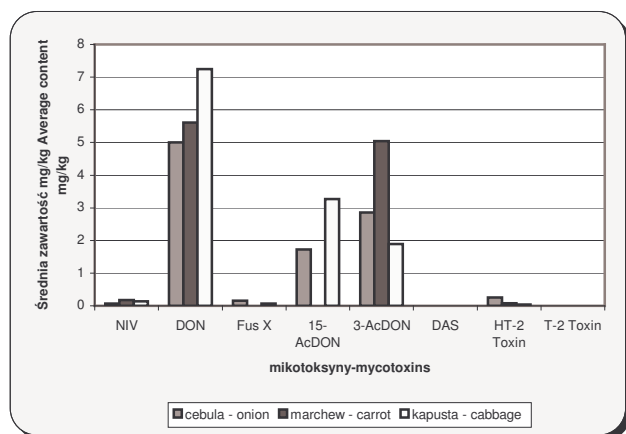
Tab. 1 Charakterystyka warunków pogody w latach 2006-2007  
Table 1. Characterization of weather conditions in 2006-2007

Miesiąc Month	Średnia miesięczna temperatura w °C w latach Average month temperature in °C in years		Średnia miesięczna temperatura z wielolecia w °C Average month temperature in °C from many years	Suma opadów w mm w latach Sum of precipitation in mm in years		Suma opadów z wielolecia w mm Sum of precipitation in mm from many years
	2006	2007		2006	2007	
Kwiecień	9,2	8,7	7,5	29,7	17,4	42,00
Maj	13,9	15,0	13,0	52,6	81,5	55,00
Czerwiec	17,6	18,1	16,5	25,6	87,8	70,00
Lipiec	22,5	19,2	17,9	18,6	87,0	80,00
Sierpień	17,7	18,4	17,3	187,2	37,6	66,00

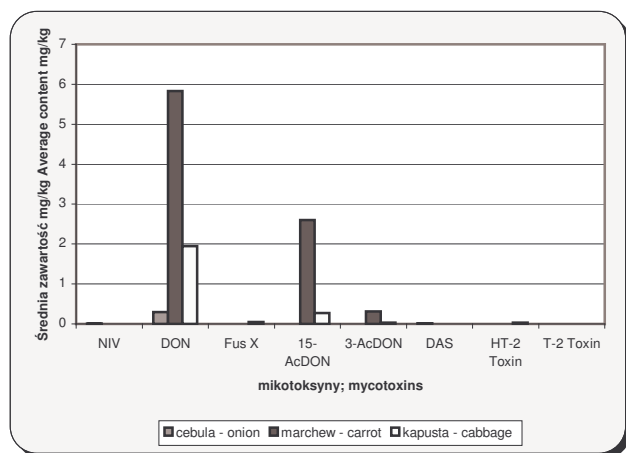
Tab. 2. Grzyby wyosobnione z jęczmienia ekologicznego i konwencjonalnego w latach 2006-2007  
 Table 2. Fungi isolated from organic and conventional barley in years 2006-2007

Gatunek grzyba <i>Fungus species</i>	Liczba wyosobnionych izolatów grzybów <i>Number of isolated fungi</i>			
	Ekologiczny <i>Organic</i>		Konwencjonalny <i>Conventional</i>	
	2006	2007	2006	2007
<i>Alternaria spp.</i>	17	23	10	18
<i>Dreschlera spp.</i>	5	42	8	40
<i>Penicillium spp.</i>	0	0	1	0
<i>Fusarium poae</i> (Peck) Wollenw.	4	46	2	45
Grzybnie nie zarodnikujące <i>The mycelium not sporulated</i>	48	10	20	12
Ogółem / <i>Total</i>	74	121	41	115

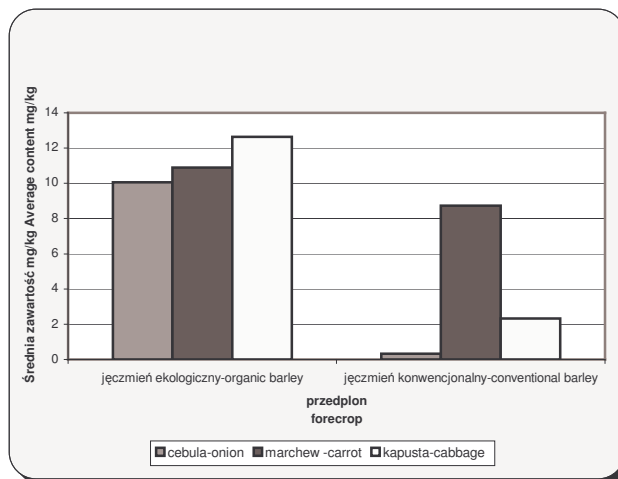
Najmniejszą ogólną zawartość mikotoksyn wykryto w jęczmieniu uprawianym po cebuli - w systemie konwencjonalnym wynosiła ona 0,32 mg/kg, a w ekologicznym 10,0 mg/kg. Największą ogólną zawartość mikotoksyn stwierdzono w jęczmieniu uprawianym w systemie ekologicznym po kapuście i wynosiła ona 12,64 mg/kg, a w konwencjonalnym po marchwi 8,42 mg/kg (rys. 3).



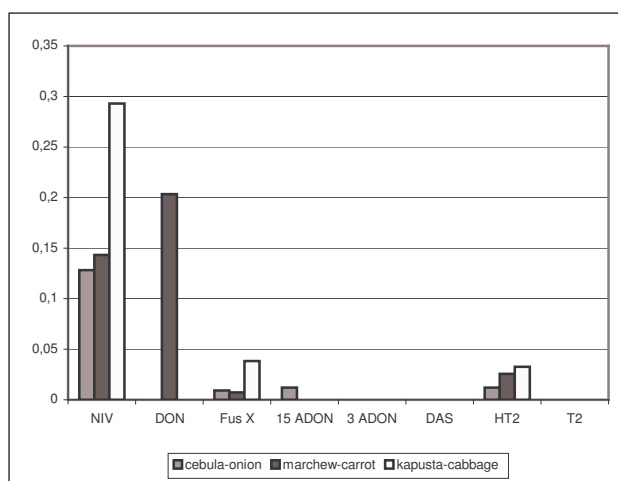
Rys. 1. Zawartość mikotoksyn w jęczmieniu uprawianym w systemie ekologicznym po trzech przedplonach w 2006 r.  
 Fig. 1. The content of mycotoxins in organic barley after three forecrops in 2006



Rys. 2. Zawartość mikotoksyn w jęczmieniu uprawianym w systemie konwencjonalnym w 2006 roku  
 Fig. 2. The content of mycotoxins in conventional barley after three forecrops in 2006



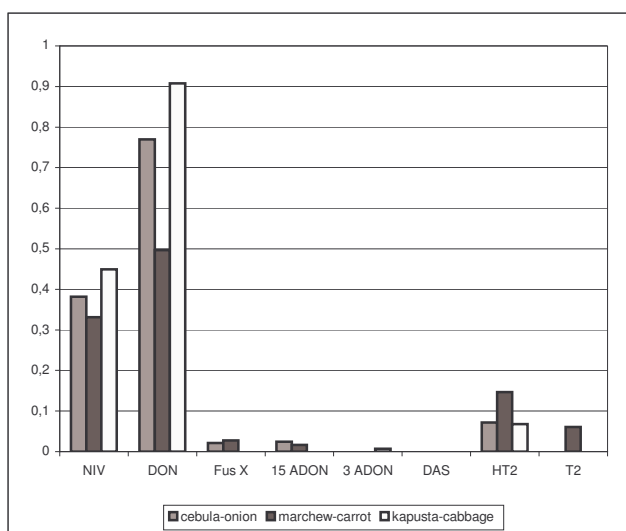
Rys. 3. Ogólna zawartość mikotoksyn w jęczmieniu uprawianym w systemie ekologicznym i konwencjonalnym w 2006 r.  
 Fig. 3. The total content of all mycotoxins in organic and conventional barley in 2006



Rys. 4. Zawartość mikotoksyn w jęczmieniu uprawianym w systemie ekologicznym w 2007 roku  
 Fig. 4. The content of mycotoxins in organic barley in 2007

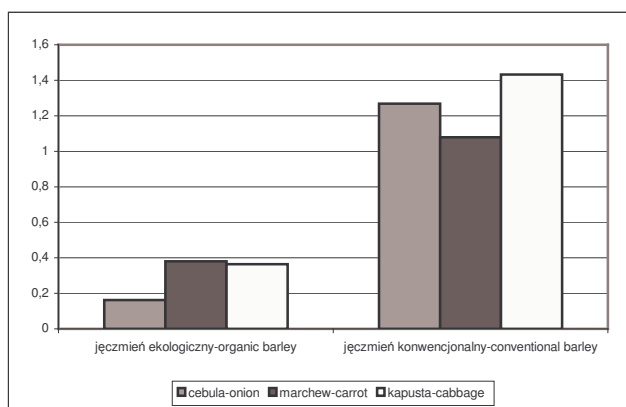
W 2007 roku zawartość mikotoksyn w ziarniakach obu badanych zbóż była mniejsza w porównaniu z 2006 rokiem, co wynika z wpływu warunków pogody. W 2006 roku przed zbiorami wystąpiły obfite opady deszczu, które

spowodowały wzrost infekcji grzybami z rodzaju *Fusarium* w kłosach badanych zbóż i tworzenie przez nich mikotoksyn. W 2007 roku w tym czasie warunki pogody nie sprzyjały rozwojowi grzybów z rodzaju *Fusarium* (tab. 1). W 2007 roku bardziej zanieczyszczone przez mikotoksyny było ziarno jęczmienia z konwencjonalnego systemu produkcji (rys. 4, 5, 6). Mniejsze było zanieczyszczenie ziarna niwalenolem niż deoksyniwalenolem. W obu systemach produkcji stwierdzano w ziarnie jęczmienia toksynę HT-2 w największych ilościach po marchwi oraz toksynę T-2 tylko po marchwi i tylko w systemie produkcji konwencjonalnej (rys. 4 i 5). Biorąc pod uwagę ogólną zawartość mikotoksyn, to w drugim roku badań najmniej ich stwierdzono po cebuli w ekologicznym systemie produkcji i po marchwi w konwencjonalnym systemie produkcji (rys. 6).



Rys. 5. Zawartość mikotoksyn w jęczmieniu uprawianym w systemie konwencjonalnym w 2007 roku

Fig. 5. The content of mycotoxins in conventional barley in 2007



Rys. 6. Ogólna zawartość mikotoksyn w jęczmieniu jarym uprawianym w 2007 roku w systemie ekologicznym i konwencjonalnym po różnych przedplonach

Fig. 6. The total content of mycotoxins in organic and conventional barley cultivated in 2007 after different forecrops

Najkorzystniejszym przedplonem dla jęczmienia w aspekcie ograniczania tworzenia mikotoksyn okazała się cebula, przy czym w obu latach w systemie ekologicznym, a w przypadku jęczmienia konwencjonalnego tylko w 2006 roku. Silniejsze oddziaływanie cebuli jako przedplonu w systemie ekologicznym może mieć związek z większą aktywnością biologiczną tej rośliny warunkowaną systemem uprawy.

Hamujący wpływ różnych roślin przedplonowych na tworzenie deoksyniwalenolu w pszenicy i jęczmieniu zaobserwowali także Rioux i in.[3]. Następstwo roślin wymienia się w „Kodzie dobrej praktyki rolniczej dla redukcji mikotoksyn w zbożach w Anglii” jako jeden z ważnych czynników w profilaktyce fuzariozy kłosów zbóż [8].

#### 4. Wnioski

Przeprowadzone badania upoważniają do wyprowadzenia następujących wniosków:

1. *Fusarium poae* okazał się wyłączną przyczyną fuzariozy kłosów jęczmienia jarego.
2. Zawartość mikotoksyn trichotecenowych w ziarnie jęczmienia jarego zależała od warunków pogody, systemu produkcji i przedplonu.
3. Najlepszym przedplonem dla jęczmienia uprawianego w systemie ekologicznym była cebula, a w konwencjonalnym w jednym roku cebula, a w drugim marchew.
4. W obu systemach uprawy zawartość mikotoksyn nie przekroczyła norm określonych dla zbóż.

#### 5. Literatura

- [1] Łukanowski A., Baturo A., Sadowski Cz.: Healthiness of winter wheat and spring barley farmerd under different systems. Plant Protection Science, 2002, vol. 38 (2) : 662-666.
- [2] Maier F. J., Miedaner T., Haderl B., Felk A., Salomon S., Lemmens M., Kassner H., Schafer W.: Involvement of trichothecenes in fusarioses of wheat, barley and maize evaluated by gene disruption of the trichodiene synthase (Tri5) gene in three field isolates of different chemotype and virulence. Mol. Plant Pathol., 2006, 7 : 449-461.
- [3] Rioux S., Pageau D., Lafond J., Lajeunesse J., Savard M., Tremblay G: Crop rotation and tillage system effects on DON content in wheat and barley production in Quebec, Canada. Proceedings of the 2<sup>nd</sup> International Symposium on *Fusarium* Head Blight incorporating the 8<sup>th</sup> European *Fusarium* seminar. 2004, vol. 2, Orlando, FL, USA.
- [4] Solarska E.: Kształtowanie się zbiorowisk grzybów i bakterii w glebie pod uprawą chmielu w zależności od zabiegów agrotechnicznych ograniczających werciliozę (*Verticillium albo-atrum*). Rozprawa habilitacyjna. IUNG, Puławy 1996.
- [5] Solarska E.: Grzyby z rodzaju *Fusarium* i mikotoksyny występujące na pszenicy ozimej uprawianej w różnych systemach produkcji. [w:] Wybrane zagadnienia ekologiczne we współczesnym rolnictwie. PIMR, Poznań 2005, Monografia t. 2, s. 115-125.
- [6] Valle-Algarra F. M., Medina A., Gimeno-Adelantado J.V., Llorens A., Jimenez M., Mateo R.: Comparative assessment of solid-phase extraction clean-up procedures, GC columns and perfluoroacylation reagents for determination of type B trichothecenes in wheat by GCECD, Talanta 2005, 66, 194201.
- [7] Walsh, E.J., Fanning, M.J. and Bannon, E.: An evaluation of screening techniques to assess *Fusarium* head blight resistance in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). Cereal Research Communications 1998, 26, 59-66.
- [8] [www.food.gov.uk/foodindustry/farmingfood/fusariumadvice](http://www.food.gov.uk/foodindustry/farmingfood/fusariumadvice) - Code of good Agricultural Practice for the reduction mycotoxins in UK cereals. Food Standards Agency.