

VARIJABILNOST VRSTE *Fusarium graminearum* PATOGENA STRNIH ŽITA U SRBIJI

Ana Obradović¹, Slavica Stanković¹, Milan Stevanović¹, Vesna Krnjaja³, Aleksandra Bulajić² i Goran Delibašić²

¹ Institut za kukuruz „Zemun Polje”, Slobodana Babića 1, 11080 Beograd, Srbija

² Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet, Beograd, Srbija

³ Institut za stočarstvo, Autoput 16, 11080 Beograd, Srbija

E-mail: aobradovic@mrizp.rs

Rad primljen: 28.02.2017.

Prihvaćen za štampu: 10.05.2017.

Izvod

Vrste roda *Fusarium* su najčešći patogeni na žitaricama širom sveta, a najzastupljenija među njima je vrsta *F. graminearum*. Ova vrsta sintetiše širok spektar mikotoksina (fuzariotoksina), među kojima su najzastupljeniji trihoteceni tipa B (deoksinivalenol-DON), a zatim zearalenoni (ZEA). Za proučavanje diverziteta vrste *F. graminearum* u okviru ovog rada korišćeni su izolati iz kolekcije Laboratorije za fitopatologiju Instituta za kukuruz “Zemun Polje”. Odabранo je 12 izolata koji su prikupljeni u periodu od 2005. do 2016. godine, poreklom sa zrna pšenice i ječma iz različitih lokaliteta na teritoriji Srbije. Cilj rada je bio da se ispita varijabilnost vrste *F. graminearum* u pogledu patogenosti izolata, porasta micelije, veličine makrokonidija kao i u potencijalu produkcije DON i ZEA pomoću ELISA metode.

Svi ispitivani izolati su ispoljili patogenost u polju uz različit stepen agresivnosti koja je varirala od 1,75 do 3,75 (na skali 1-7). Pored varijabilnosti u agresivnosti izolati su bili divergentni i u mikroskopskim i makroskopskim karakteristikama. Izolati *F. graminearum* su proizveli prosečne koncentracije DON-a 119,9 µg/g (izolati sa pšenicom) i 33,4 µg/g (izolati sa ječmom), dok je prosečna koncentracija ZEA kod izolata sa pšenicom bila 40,14 µg/kg, a kod izolata sa ječmom 31,25 µg/kg. Nije uočena korelacija između produkcije DON i ZEA kod izolata *F. graminearum*.

Ključne reči: Pšenica, ječam, DON, ZEA

UVOD

Proizvodnju žita ugrožava veliki broj patogena među kojima se posebno ističe vrsta *F. graminearum*, koja je široko rasprostranjena u svetu. Jedna je od najrasprostranjenijih, najdestruktivnijih ali i najranije identifikovanih vrsta roda *Fusarium* i smatra se najznačajnijim patogenom strnih žita i kukuruza. Fuzarioze biljaka su prisutne svake godine u određenom procentu, a u godinama epidemija mogu dostići 70-90%, naročito kada je zahvaćen klip kukuruza. Ove gljive utiču na seme smanjenjem klijavosti, promenom fizičko-hemijskih svojstava i kontaminacijom mikotoksinima. Agroekološki uslovi u Srbiji su pogodni za

razvoj patogenih i toksigenih vrsta roda *Fusarium* u širim razmerama. Zbog svojih toksigenih svojstava za ljude i životinje, pojedinim vrstama iz ovog roda pridaje se veći značaj kao potencijalno toksigenim vrstama nego kao parazitskim vrstama (Stanković i sar., 2007). Utvrđeno je da neke toksigene vrste poreklom iz Srbije imaju visok potencijal za produkciju mikotoksina, kao i da su ovi fuzariotoksini prisutni u visokom procentu na zrnu žita u našoj zemlji (Stanković i sar., 2007b). Usled velike varijabilnosti vrste, *F. graminearum* se odlično prilagodio različitim agroekološkim uslovima gajenja zbog čega se smatra kosmopolitom. Ova kosmopolitna vrsta utiče na smanjenje prinosa i kvaliteta zrna, a takođe ima veliki značaj zbog sposobnosti sinteze mikotoksina u inficiranim biljkama.

Mikotoksini su po hemijskom sastavu veoma heterogene supstance koje nastaju različitim metaboličkim putevima. Do sada je identifikovano preko 300 toksičnih metabolita gljiva, od čega 139 čine fuzariotoksini (Lević i sar., 2004a). Među njima najzastupljeniji su trihoteceni [tipa A (T-2 toksin) i tipa B (deoksinivalenol-Don)], a zatim zearalenoni (ZEA), fumonizini (FB1) i drugi mikotoksini (moniliformin, bovericin, fuzaproliferin, fuzarin, itd.), koji se razlikuju po hemijskoj strukturi, mehanizmu delovanja i karakterističnim simptomima oboljenja koje prouzrokuju kod ljudi i životinja. Različite vrste roda *Fusarium* produkuju različite mikotoksine, a isto tako jedna vrsta može produkovati više različitih mikotoksina koji deluju na zdravlje ljudi i životinja. Jedan od primera je vrsta *F. graminearum* koja sintetiše više od 17 vrsta mikotoksina: ZEA, DON, mono- acetildeoksinivalenol (3-ADON i 15-ADON), nivalenol-NIV, retko trihotecene tipa A, kulmorin, fuzarin C, fuzarohormanon i steroide (Lević i sar., 2004). S druge strane, toksin kao što je ZEA mogu sintetisati osim vrste *F. graminearum* i vrste *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. semitectum* i *F. sporotrichioides*.

S obzirom na veliki značaj mikotoksina u poljoprivredi kao i u prehrambenoj industriji od suštinskog značaja za jednu zemlju je poznavanje toksikološkog profila jer mikotoksini imaju značajnu ulogu u etiologiji bolesti. U pogledu zaštite zdravlja ljudi i životinja poznavanje toksikološkog profila je važna informacija za uspostavljanje strategije za procenu rizika. Podaci u literaturi ukazuju na velike promene u strukturi populacije vrste *F. graminearum* kako na američkom kontinentu, tako i na drugim kontinentima, tako da je proučavanje diverziteta ove kompleksne vrste u Srbiji od posebnog značaja. Iako je kompleksna vrsta *F. graminearum* kao patogen strnih žita i kukuruza dosta proučavan, o njegovoj distribuciji, varijabilnosti u pogledu morfoloških, fizioloških, toksikoloških i drugih svojstava nema dovoljno informacija u našoj zemlji.

MATERIJAL I METOD RADA

Analizirano je ukupno 12 izolata *F. graminearum* poreklom sa zrna pšenice (8) i ječma (4) iz 10 različitih lokaliteta na teritoriji Srbije koji su prikupljeni u periodu 2005-2016. godine. Kulture gljive *F. graminearum* su prvo prečišćene primenom

postupka monosporijalne izolacije u cilju dobijanja uniformnih i čistih kultura (Nelson et al., 1983; Burgess et al., 1994; Leslie i Summerell, 2006).

Varijabilnost fizioloških svojstava vrste *F. graminearum* proučavana je u pogledu patogenosti ispitivanih izolata putem veštačke inokulacije biljaka u polju. Patogenost izolata proveravana je tokom 2011. godine na oglednoj parceli Instituta za kukuruz u Zemun Polju. Za testiranje patogenosti izolata *F. graminearum* u poljskim uslovima izvršena je veštačka inokulacija klipa kukuruza po metodi koju su opisali Reid et al. (1996). Ocena stepena patogenosti izolata je izvršena na osnovu prisustva simptoma ružičaste truleži u fazi tehnološke zrelosti kukuruza i ocenjen je intenzitet fuzarioze klipa prema skali od 1 do 7 (Reid et al., 1996).

Varijabilnost vrste *F. graminearum* u pogledu morfoloških svojstava proučavana je na osnovu makroskopskih i mikroskopskih svojstava. Od makroskopskih karakteristika praćena je brzina porasta micelije nakon 48h i 96h gajenja na PDA podlozi na 25 °C u mraku. Kod mikroskopskih karakteristika proučavane su dimenzije makrokonidija (dužina i širina). Ova morfološka svojstva su proučavana gajenjem izolata u trajanju 10-14 dana na sintetičkoj nisko hranljivoj podlozi (SNA) (Nirenberg and O'Donell, 1998) i podlozi vodenog agar sa sterilnim fragmentima lista karanfila (CLA) pri smenjivanju ultraljubičaste svetlosti i tame u intervalu od po 12h. Za svaki izolat izmereno je po 50 nasumično odabranih makrokonidija u vidnom polju nativnog preparata.

Kvalitativno i kvantitativno određivanje mikotoksina urađeno je pomoću ELISA (enzimski imunosorpcioni test) testa. Pripremanje inokuluma za mikotoksikološke analize je izvršeno na sterilnom zrnu kukuruza po metodi koju su opisali Logrieco et al., (1995). Analiza potencijala produkcije mikotoksina kod ispitivanih izolata je izvršena tako što je u 5 g samlevenog uzorka dodato po 25 ml odgovarajućeg rastvarača. Mešavina je homogenizovana u mikseru (Osterizer blender) na 1300 obrtaja u trajanju od 3 minuta. Za ekstrakciju mikotoksina, korišćen je 70% rastvor metanola u destilovanoj vodi. Homogenizovana smeša uzorka je proceđena kroz Whatman filter papir No 1. Ukoliko je koncentracija mikotoksina u uzorcima bili jako velika tada su filtrati ovih uzoraka razblaženi prema upustvu proizvođača. Analiza mikotoksina je izvedena prema uputstvu (Tecna S.r.l., Italy, Celer DON Gold Test Kit, Celer Zon Test Kit). Kvantitativno određivanje koncentracije mikotoksina vršeno je na 450 nm talasne dužine pomoću ELISA čitača (BioTek EL x 800™).

REZULTATI I DISKUSIJA

Ispitivani izolati *F. graminearum* su pokazali divergentnost u porastu micelije, koji je praćen na PDA podlozi pri 25 °C u mraku u intervalima od dva dana. Brzina porasta micelije je izražena vrednostima prečnika kolonije koje su merene drugi (48h) i četvrti dan (96h) nakon presejavanja. Drugi dan posle presejavanja kod izolata poreklom sa pšenice uočen je porast micelije u opsegu od $19,66 \pm 3,05$ (MRIZP 585) do $32,33 \pm 4,16$ mm (MRIZP 790), dok je kod izolata poreklom sa ječma prečnik micelije bio u dosta manjem opsegu od $24,00 \pm 5,19$ mm (MRIZP 613) do $29,33 \pm$

2,51 mm (MRIZP 418). Četvrti dan posle presejavanja maksimalni porast kod izolata poreklom sa pšenice uočen je kod izolata MRIZP 930 (89,0 mm), dok je najmanji porast micelije uočen kod izolata MRIZP 585 (58,66 mm). Takođe, kod izolata poreklom sa ječma i četvrti dan posle presejavanja opseg je bio manji nego kod izolata poreklom sa pšenice (od 73,67 do 87,33 mm) (Tabela 1). Prema literaturnim podacima uočena je velika morfološka varijabilnost u makroskopskim karakteristikama izolata *F. graminearum* (O'Donnell et al., 2004; Starkey et al., 2007; Lević, 2008; Tančić, 2009). Prema Lević (2008) izrazito brz porast micelije ima *F. graminearum* koji za 5 dana gajenja na PDA podlozi na 25 °C dostigne prečnik micelije 75-80 mm, što je potvrđeno u našim istraživanjima (prosek: 81,47 mm za 4 dana). Nakon četiri dana gajenja, u ovom radu izolati *F. graminearum* su ispoljili brz porast micelije što je u skladu sa dosadašnjim podacima (Lević, 2008). Ispitivajući varijabilnost toksigenih vrsta roda *Fusarium*, Tančić (2009) je došla do sličnih rezultata, uočila je najveći porast micelije kod izolata *F. graminearum* nakon tri dana, a takođe i nakon pet dana gajenja na PDA podlozi (83,1 mm). Ispitivanjem diverziteta vrste *F. graminearum* u Norveškoj, Aamot et al. (2015) su uočili da se prosečan prečnik micelije na PDA podlozi povećava sa porastom temperature kod izolata *F. graminearum*.

U mikroskopske karakteristike ubrajaju se oblik i veličina makrokonidija (dužina i širina) koje su manje pouzdan pokazatelj u identifikaciji vrsta jer veličina konidija može da varira i često zavisi od porekla izolata (Lević, 2008). Makrokonidije koje su obrazovali ispitivani izolati *F. graminearum* su bile jako varijabilne, posebno kod izolata poreklom sa pšenice gde je dužina varirala u opsegu od 39,15 µm (MRIZP 820) do 53,09 µm (MRIZP 851), dok je širina makrokonidija bila od 4,43 µm (MRIZP 930) do 5,22 µm (MRIZP 851). Izolat MRIZP 851 je imao najduže makrokonidije a ujedno i najšire. Izolati *F. graminearum* koji su poreklom sa ječma su obrazovali konidije čija je dužina bila u opsegu 42,56 - 50,02 µm, dok je širina bila od 4,91 do 5,16 µm (Tabela 1). Do sličnih rezultata su došli Lević (2008) gde su izolati *F. graminearum* formirali konidije dimenzija 28-72 x 3,2-6,0 µm. Na osnovu prosečnih dimenzija, najveća varijabilnost u dužini i širini makrokonidija je uočena kod izolata koji su poreklom sa pšenice. Kod izolata poreklom sa ječma, izolat MRIZP 418 je formirao najkraće i najuže makrokonidije (42,56 x 4,91), dok je izolat MRIZP 613 formirao najduže i ujedno i najšire makrokonidije (50,02 x 5,16) (Tabela 1). Ostvareni rezultati su slični sa rezultatima Tančić (2009) gde su izolati *F. graminearum* formirali konidije prosečnih dimenzija 44,3 x 5,6 µm.

Tabela 1. Prikaz rezultata makroskopskih i mikroskopskih karakteristika izolata *F. graminearum*

Izolat	Biljka domaćin	Porast micelije (mm)		Veličina makrokonidija (μm)	
		48h Prosek±Sd	96h Prosek±Sd	Dužina Prosek±Sd	Širina Prosek±Sd
218	Pšenica	25,00 ± 6,24	84,66 ± 3,05	41,57 ± 7,14	4,58 ± 0,26
464	Pšenica	27,66 ± 5,13	86,00 ± 3,60	47,47 ± 4,66	5,00 ± 0,20
585	Pšenica	19,66 ± 3,05	58,66 ± 2,88	47,58 ± 9,29	4,96 ± 0,24
790	Pšenica	32,33 ± 4,16	87,00 ± 1,00	48,52 ± 8,66	5,00 ± 0,28
820	Pšenica	27,66 ± 0,57	87,66 ± 1,15	39,15 ± 4,15	4,82 ± 0,25
851	Pšenica	31,00 ± 5,29	86,66 ± 3,05	53,09 ± 8,15	5,22 ± 0,26
930	Pšenica	22,33 ± 0,57	72,00 ± 2,64	45,61 ± 9,19	4,91 ± 0,23
948	Pšenica	30,66 ± 3,78	89,00 ± 1,00	40,59 ± 7,82	4,43 ± 0,24
325	Ječam	28,67 ± 1,41	84,67 ± 4,24	44,49 ± 6,01	5,00 ± 0,27
418	Ječam	29,33 ± 2,51	87,33 ± 2,51	42,56 ± 8,05	4,91 ± 0,24
532	Ječam	27,33 ± 7,57	80,33 ± 7,57	46,11 ± 5,65	4,96 ± 0,27
613	Ječam	24,00 ± 5,19	73,67 ± 4,93	50,02 ± 9,11	5,16 ± 0,23
Prosek		27,14	81,47	45,56	4,91

Patogenost izolata *F. graminearum* u poljskim uslovima je potvrđena nakon veštačke inokulacije klipa kukuruza u toku 2011. godine na lokalitetu Zemun Polje i utvrđen je intenziteta zaraze. Ostvareni rezultati su ukazali da su svi ispitivani izolati bili patogeni, odnosno na svim inokulisanim klipovima se pojavila crveno-ružičasta trulež od vrha klipa što je karakterističan simptom. Prosečan stepen infekcije u 2011. godini je varirao, kod izolata poreklom sa pšenice je bio u intervalu od 2,10 (MRIZP 585) do 3,22 (MRIZP 948), dok je kod izolata poreklom sa ječma uočena veća varijabilnost u ispoljenoj patogenosti. Prosečan intenzitet infekcije kod izolata sa ječma je bio u većem intervalu, od 1,75 (MRIZP 532) do 3,85 (MRIZP 418) (Tabela 2). Proučavajući varijabilnost patogenih svojstava *Fusarium* spp. poreklom sa zrna kukuruza i pšenice, Tančić i sar. (2009) su uočili da je intraspecijska varijabilnost u agresivnosti bila najizraženija kod izolata *F. graminearum*. Takođe, ovi autori su utvrdili da su izolati *F. graminearum* poreklom sa zrna pšenice ispoljili manju patogenost u poređenju sa izolatima sa zrna kukuruza. Rezultati patogenosti u ovom istraživanju su pokazali da su izolati poreklom sa pšenice (prosek: 2,72) ispoljili manju prosečnu agresivnost u odnosu na izolate poreklom sa ječma (prosek: 2,93) (Tabela 2).

Tabela 2. Prikaz ocene patogenosti izolata *F. graminearum* u poljskim uslovima

Izolat	Biljka domaćin	Lokalitet	Ocena
218	Pšenica	Zemun Polje	2,20
464	Pšenica	Niš	2,50
585	Pšenica	Čačak	2,10
790	Pšenica	Krsmanovača	3,10
820	Pšenica	Taraš	2,87
851	Pšenica	Bački Petrovac	3,07
930	Pšenica	Ruma	2,72
948	Pšenica	Padinska Skela	3,22
Prosek			2,72
325	Ječam	Sombor	2,42
418	Ječam	Zemun Polje	3,85
532	Ječam	Sombor	1,75
613	Ječam	Šabac	3,70
Prosek			2,93

Pomoću ELISA metode utvrđen je potencijal produkcije mikotoksina ZEA i DON ispitivanih izolata *F. graminearum*. Koncentracija mikotoksina ZEA je varirala kako između izolata poreklom sa istog domaćina tako i između izolata poreklom sa različitih domaćina. Kada se uporede prosečne koncentracije ZEA uočava se da nema velike razlike u produkciji ovog toksina između izolata poreklom sa pšenice (prosek 40,14 µg/kg) i ječma (prosek 31,25 µg/kg) (Tabela 3). Koncentracije ZEA koje su sintetisali proučavani izolati u ovom radu su daleko niže od prosečne produkcije izolata *F. graminearum* (30.600 µg/kg) koje su istraživali Tančić (2009), poreklom sa pšenice i kukuruza u Srbiji. Ispitivanjem varijabilnosti vrsta roda *Fusarium* i fuzariotoksina u Srbiji, uočeno je da je najveća varijabilnost u potencijalu produkcije ZEA imala vrsta *F. graminearum* (Tančić, 2009). Jajić i sar., (2007) su ustanovili potencijal produkcije ZEA od 220 µg/kg nakon 17 dana inkubacije kod izolata *F. graminearum*. Opseg variranja koncentracija ZEA kod ispitivanih izolata u ovom radu je bio od 9,67 do 94,26 µg/kg kod izolata poreklom sa pšenice, dok je kod izolata poreklom sa ječma opseg bio od 2,55 do 59,16 µg/kg. Maksimalni potencijal produkcije sintetisanog ZEA je utvrđen kod izolata MRIZP 930 (94,26 µg/kg) koji je poreklom sa pšenice, dok je minimalna produkcija ovog toksina detektovana kod izolata MRIZP 325 (2,55 µg/kg) koji je poreklom sa zrna ječma (Tabela 3).

Tabela 3. Prikaz potencijala produkcije mikotoksina kod izolata *F. graminearum*

<i>Koncentracija mikotoksina</i>		
<i>Izolat</i>	DON (µg/g)	ZEA (µg/kg)
218	91,5	46,73
464	95,0	64,94
585	16,6	4,26
790	51,6	9,67
820	353,1	39,57
851	98,2	18,99
930	93,8	94,26
948	95,4	42,68
Prosek	111,9	40,14
325	3,0	2,55
418	67,56	59,16
532	16,4	31,06
613	45,2	32,23
Prosek	33,04	31,25
<i>Koefficient korelacije (r)</i>		0,27

Rezultati kvantitativne toksikološke analize mikotoksina DON ispitivanih izolata *F. graminearum* su pokazali da je izolat MRIZP 820 poreklom sa pšenice produkovaо najviše koncentracije ovog mikotoksina (353,1 µg/g), dok je najmanju koncentraciju 3,0 µg/g produkovaо izolat MRIZP 325 koji je poreklom sa ječma. Do sličnih rezultata su došli Jajić i sar., (2007) koji su utvrdili koncentracije DON-a do 465,9 µg/g. Poređenjem prosečnih koncentracija DON-a poreklom sa različitim domaćima uočeno je da su izolati *F. graminearum* poreklom sa ječma sintetisali niže (33,04 µg/g) koncentracije DON-a za razliku od izolata poreklom sa pšenice (111,9 µg/g). Izolati poreklom sa pšenice su imali veći opseg variranja u koncentracijama DON-a u odnosu na izolate poreklom sa ječma. U istraživanjima Tančić (2009) utvrđena je dosta niža prosečna koncentracija DON-a (10,1 µg/g) kod izolata *F. graminearum*, a takođe je uočena i intraspecijska varijabilnost u sintezi DON-a koja je bila najizraženija kod izolata *F. graminearum*. Na osnovu dobijenih rezultata uočeno je da nema korelacije između ova dva ispitivana mikotoksina ($r=0,27$). Pregled toksikološkog potencijala produkcije ZEA i DON primenom ELISA testa dat je u Tabeli 3.

ZAKLJUČAK

Rezultati ostvareni u ovim istraživanjima predstavljaju početak i osnovu proučavanja varijabilnosti ove kompleksne vrste koja spada među najznačajnije vrste koje se javljaju na žitima u Srbiji. Vrsta *F. graminearum* je naročito značajna zbog sposobnosti sinteze mikotoksina u inficiranim biljkama. Poslednjih godina, zbog sve strožih zakonskih propisa u mnogim zemljama širom sveta, pažnja istraživača je usmerena na mikotoksikološke analize uzoraka žitarica i njihovih proizvoda. S obzirom na ekonomski štete koje prouzrokuje vrsta *F. graminearum* usled razvoja na žitaricama, neophodno je praćenje prisustva mikotoksina u poljoprivrednim proizvodima. Međutim, u Srbiji nema sistematskog praćenja ovih štetnih agenasa, iako je to neophodno da bi se koncentracija mikotoksina smanjila do nivoa koji nije štetan po zdravlje ljudi i životinja. Takođe, rezultati o varijabilnosti populacije patogena imaju bitnu ulogu u razvoju strategije oplemenjivanja biljaka i stvaranju sorti visokog genetičkog potencijala rodnosti, kao i u poboljšanju tehnologije gajenja u cilju bolje zaštite od bolesti.

LITERATURA

- Aamot, H.U., Ward, T.J., Brodal, G., Vrålstad, T., Larsen, G.B., Klemsdal, S.S., Elameen A., Uhlig, S., Hofgaard, I. S. (2015): Genetic and phenotypic diversity within the *Fusarium graminearum* species complex in Norway. European Journal of Plant Pathology, 142: 501–519.
- Burgess, L. W., Summerell, B. A., Bullock, S., Gott, K. P., Backhouse, D. (1994): *Laboratory Manual for Fusarium Research*, 3rd ed. University of Sydney/Royal Botanic Gardens, Sydney, Australia.
- Jajić I., Bočarov-Stančić, A., Bijelić M. (2007): Investigations of the Capability of *Fusarium* Isolates from Corn for Biosynthesis of Fusariotoxins. Matica Srpska Proceedings for Natural Sciences, Novi Sad, 113: 125-133.
- Leslie, J. F., Summerell, B. A. (2006): The *Fusarium* Laboratory Manual, 1st edition. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA, 1–369.
- Lević, J., Stanković, S. i Bočarov-Stančić, A. (2004): Pojava i suzbijanje toksigenih vrsta gljiva u uskladištenom žitu. Biljni lekar, 3-4: 245-252.
- Lević, J. (2008): Vrste roda *Fusarium* u oblasti poljoprivrede, veterinarske i humane medicine. Cicero, Beograd, 1226.
- Logrieco, A., Moretti A., Ritieni, A., Bottalico, A., Corda P. (1995): Occurrence and Toxicogenicity of *F. proliferatum* from Preharvest Maize Ear Rot and Associated Mycotoxins in Italy. Plant Disease, 79: 727-723.
- Nelson, P.E., Toussoun, T.A., Marasas, W.F.O. (1983): *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. The Pennsylvania State Univ., Press, University Park.
- Nirenberg, H.I., O'Donnell, K. (1998): New *Fusarium* species and combinations within the *Gibberella fujikuroi* species complex. Mycologia, 90: 434–458.
- O'Donnell, K., Ward, T.J., Geiser, D.M., KIestler, H.C, Aoki, T. (2004): Genealogical concordance between mating type locus and seven other nuclear genes supports formal recognition of nine phylogenetically distinct species within the *Fusarium graminearum* clade. Fungal Genetics Biology, 41: 600-623.

- Reid, L.M., Hamilton, R.I., Mather, D.E. (1996): Screening Maize for Resistance to Gibberella Ear Rot. Research Branch Agriculture and Agri-Food Canada, Technical Bulletin 5E.
- Stanković, S., Lević, J., Krnjaja, V., Bočarov-Stančić, A., Tančić, S., Kovačević, T. (2007): Frequency of toxigenic *Fusarium* species and fusariotoxins in wheat grain in Serbia. Matica Srpska Proceedings for Natural Sciences, Novi Sad, 113: 93-102.
- Stanković, S., Lević, J., Petrović, T., Logrieco, A., Moretti, A. (2007b): Pathogenicity and mycotoxin production by *Fusarium proliferatum* isolated from onion and garlic in Serbia. European Journal of Plant Pathology, 118: 165-172.
- Starkey, D.E., Ward, T.J., Aoki, T., Gale, L.R., Kistler, H.C., Geiser, D.M., Suga, H., Toth, B., Varga, J., O'Donnell, K. (2007): Global molecular surveillance reveals novel Fusarium head blight species and trichotecene toxin diversity. Fungal Genetics Biology, 44: 1191-1204.
- Tančić, S. (2009): Varijabilnost toksigenih vrsta roda *Fusarium* i fuzariotoksina u različitim agroekološkim uslovima uzgajanja kukuruza i pšenice. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, 1-119.
- Tančić, S., Staanković, S., Lević, J. (2009): Varijabilnost patogenih svojstava *Fusarium* spp. poreklom iz zrna kukuruza i pšenice. Pesticidi i fitomedicina, 24: 259–269.

Abstract

VARIABILITY OF THE *Fusarium graminearum* SPECIES – PATHOGENS OF SMALL GRAINS IN SERBIA

Ana Obradović¹, Slavica Stanković¹, Milan Stevanović¹, Vesna Krnjaja³, Aleksandra Bulajić² i Goran Delibašić²

¹ Maize Research Institute, Zemun Polje, Slobodana Bajića 1, Belgrade, Serbia

² University in Belgrade, Faculty of Agriculture, Nemanjina 6, Belgrade, Serbia

³ Institute for Animal Husbandry, Autoput 16, Belgrade, Serbia
E-mail: aobradovic@mrizp.rs

Species of the genus *Fusarium* are predominant pathogens in cereals worldwide, while *F. graminearum* is the most distributed among them. This species synthesises a broad spectrum of mycotoxins (fusariotoxins), among which, trichothecene type B (deoxynivalenol-DON) and zearalenone (ZEA) prevail. The isolates from the collection of the Laboratory of Phytopathology of the Maize Research Institute, Zemun Polje were used to study diversity of the *F. graminearum* species. Twelve selected isolates were collected in the 2005-2016 period from wheat and barley kernels in various locations in Serbia. The aim of this study was to observe variability of the *F. graminearum* species regarding isolate pathogenicity, mycelium growth, macroconidium size, as well as DON and ZEA production potential by the ELISA method.

All the observed isolates indicated pathogenic potential in the field and expressed different viability ranging from 1.75 to 3.75. Besides different viability, microscopic and macroscopic properties of isolates also diverged. The isolates of *F. graminearum* produced average concentrations of DON amounting 119. 9 and 33.4 µg/g (isolates from wheat and barley, respectively), while the average concentration of ZEA was 40.14 µg/kg (isolates from wheat) and 31.25 µg/kg (isolates from barley). A correlation between production of DON and ZEA was not observed in the isolates of *F. graminearum*.

Key words: wheat, barley, DON, ZEA