

Houby rodů *Penicillium* a *Aspergillus* ve skladovaných zrnech obilovin v České republice

(The occurrence of the fungi of *Penicillium* a *Aspergillus* genera in stored grains of cereals in the Czech Republic)

Novotný, D., Neubauerová, T.

Výzkumný ústav rostlinné výroby v.v.i., Drnovská 507, Praha 6 – Ruzyně

Souhrn: Byl porovnáván výskyt hub z rodů *Penicillium* a *Aspergillus* ve skladovaných zrnech obilovin v České republice při použití dvou způsobů povrchového ošetření. Byly zjištěny významné rozdíly mezi výskytem těchto rodů hub mezi oběma způsoby povrchového ošetření. Při ošetření roztokem chloraminu byly houby z rodů *Penicillium* a *Aspergillus* zjištěny ve 40,40 % a 3,60 % zrn, respektive. Při ošetření metodou založenou na následném použití roztoků etanolu a chlornanu byly houby z rodů *Penicillium* a *Aspergillus* zjištěny v 1,46% a 0,12% zrn, respektive. Z rodu *Aspergillus* byly nejčastěji zaznamenány druhy ze skupiny *Aspergillus versicolor*, *A. flavus* a *A. ruber*. Z rodu *Penicillium* s. l. byly nejčastěji zaznamenány druhy ze skupin *Penicillium exilicaulis*, *P. viridicatum*, *P. citrinum*, *P. camemberti*, *P. expansum* a *Talaromyces rugulosus*.

Klíčová slova: obiloviny, mykobiota, mykotoxinogenní houby, *Penicillium*, *Aspergillus*

Abstract: Comparison of occurrence of fungi of the genera *Penicillium* and *Aspergillus* isolated from the storage grains in the Czech Republic was made after two type of surface treatment. There were observed significant differences between the ways of treatment of grains. If the grains were treated with chloramin, fungi of the genera *Penicillium* and *Aspergillus* were detected in 40.40 % and 3.60 % of grains, respectively. After treatment with ethanol and sodium hypochlorite, fungi of the genera *Penicillium* and *Aspergillus* were detected in 1.46% and 0.12% of grains, respectively. Strains from clades *Aspergillus versicolor*, *A. flavus* and *A. ruber* were the most frequently identified among the strains of *Aspergillus*. Strains of *Penicillium* s. l. were most frequently classified into clades *Penicillium exilicaulis*, *P. viridicatum*, *P. citrinum*, *P. camemberti*, *P. expansum* a *Talaromyces rugulosus*.

Key Words: cereals, mycobiota, mycotoxinogenic fungi, *Penicillium*, *Aspergillus*

Úvod

Pletiva zrn obilovin jsou velmi často kolonizována různými druhy hub. Jednak je to kolonizace houbami přímo při růstu obilí na poli (tzv. endofytická nebo také označovaná jako přirozená nebo polní mykobiota) a jinak je to kolonizace při skladování (skladištní mykobiota). Kromě toho jsou prach a porušená zrna kolonizována houbami, které vytvářejí své struktury na povrchu zrna, jako epifyty a představují typické saprotrofní mikroorganismy. Houby rodu *Fusarium* se vyskytují v různých druzích rostlin, před uskladněním zrna. Naproti tomu houby rodu *Penicillium* a *Aspergillus* jsou známy především ze skladovaného zrna, zlomků zrn, šrotu nebo prachu vzniklého ze zrn.

Dostupných prací o endofytické mykobiote obilovin je poměrně málo. Jako součást endofytické mykobioty se v obilninách vyskytují především druhy z rodů *Alternaria*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Pleospora* a *Cladosporium* a druhy z rodů *Aspergillus* a *Penicillium* jsou zaznamenávány málo často (Riesen et Sieber 1985, Crous et al. 1995, Laran et al. 2002).

Většina druhů hub, které se vyskytují v rostlinách, mohou produkovat sekundární metabolity, které mohou ovlivňovat jiné druhy organismů vč. hub. Část těchto hub produkuje nebo může produkovat mykotoxiny, které negativně působí na zdraví člověka nebo hospodářských zvířat. Mezi nejvýznamnější mykotoxinogenní druhy hub patří zástupci z rodů *Fusarium*, *Penicillium* a *Aspergillus*. Mezi nejvýznamnější mykotoxiny hub z rodu *Fusarium* patří trichotheceny, T-2 toxin, fumonisiny, deoxynivalenol a zearalenon. Mezi nejvýznamnější mykotoxiny produkované houbami z rodu *Penicillium* a *Aspergillus* patří aflatoxiny, ochratoxiny, patulin, citrinin, sterigmatocystin, kyselina cyklopiazonová (Malíř et al. 2003, Samson et al. 2004).

Během posledních dvaceti let došlo k značnému využívání molekulárně – genetických metod v taxonomii hub, zejména mikroskopických hub, a díky tomu bylo rozlišeno velké množství

tzv. dobrých druhů, které lze spolehlivě určit pouze pomocí molekulárně–genetických metod nebo pomocí kombinace morfologických, fyziologických a molekulárně–genetických metod. Mezi rody, u nichž došlo k rozlišení nových druhů, patří v první řadě rody *Penicillium* a *Aspergillus*. Starší informace proto mohou zahrnovat poznatky nejen o daném druhu v současném pojetí a není možné spolehlivě určit, kterého druhu se tato informace týká.

Ke změnám došlo i na úrovni rodů. V ne malém počtu případů se stává, že skupina druhů hub, které původně byly zařazeny do jednoho rodu, jsou dnes řazeny do 2 a více rodů.

Materiál a metody

Z každého vzorku byla mykobiota hodnocena u 100 zrn umístěných po pěti v dvaceti 90mm Petriho miskách. Zrna byla ošetřena 2 různými způsoby. 1) Ponoření zrn do 0,4% roztoku chloraminu na dobu 2 minut a následně 3 x propláchnout ve sterilní destilované vodě. Takto bylo zpracováno 5 vzorků (= 500 zrn). 2) Povrchová sterilizace zrn ošetřením v 96% etanolu 1 minutu, pak v koncentrovaném chlornanu sodném 2 minuty, nakonec v 96% etanolu 30 sekund. Takto bylo zpracováno 26 vzorků (= 2600 zrn). Inkubace všech vzorků probíhala na mediu DRBC ve tmě při teplotě 25 °C. Po 14 dnech byly vzorky prohlíženy, hodnocen výskyt vyrostlých hub (na základě mikromorfologie určovány na úroveň rodu) a odočkovány vyrostlé kultury. Ty byly následně kultivovány na agarovém živném mediu a z nich byla izolována DNA pro identifikaci.

Pro izolaci DNA byl použit komerční izolační kit NucleoSpin® Microbial DNA, Machery-Nagel. Na Petriho misky se sladinovým agarem byl umístěn sterilní celofán a na takto připravené misky byla očkovaná čistá kultura. Po 7 dnech bylo asi 40 mg narostlého mycelia přeneseno z celofánu do zkumavky obsahující skleněné kuličky o průměru 40–400 µm (Bead tube type B, součást kitu NucleoSpin® Microbial DNA, Machery-Nagel). Dále bylo

Tab. 1: Výskyt jednotlivých taxonů mikroorganismů v zmech obilovin při ošetření etanolem a chlomanem sodným. (% zm na nichž byl daný taxon houby zjištěn)

Číslo vzorku	Taxon houby	Alternaria	Aspergillus	Cladosporium	Fusarium	Penicillium	Sordaria	Ulocladium	sterilní mycelium	kvasinky
	Druh obiloviny									
15-938	ječmen ozimý	23		1	24					6
15-939	ječmen ozimý	23		3	21					1
15-940	ječmen ozimý krmný	8			26					3
15-941	ječmen ozimý krmný	10	1	1	25	2				
15-942	ječmen ozimý dvouřadý (na slad)	3			21	2				
15-943	ječmen ozimý dvouřadý (na slad)	8	1		25	33				1
15-944	ječmen ozimý	19			30					3
15-945	ječmen ozimý	12		1	25					2
15-946	ječmen jarní sladovnický	19			40					
15-947	ječmen jarní sladovnický	32		2	42	1			1	2
15-948	ječmen jarní sladovnický	2	1		2					
15-949	ječmen jarní sladovnický	43		5	41					1
15-950	ječmen jarní sladovnický	43		1	28					
15-951	ječmen jarní sladovnický	32			12		1			
15-952	pšenice ozimá - potravina A	15			12					
15-953	pšenice ozimá - potravina A	8			2					
15-954	pšenice ozimá krmná	8			5					

Pokračování tab. 1: Výskyt jednotlivých taxonů mikroorganismů v zrnech obilovin při ošetření etanolem a chlornanem sodným. (% zm na nichž byl daný taxon houby zjištěn)

15-955	pšenice ozimá krmná	1				3														
15-956	pšenice potravina	28				56														
15-957	pšenice potravina	18				34														
15-958	pšenice potravina	55			3	32														
15-959	pšenice potravina	15				25														
15-960	pšenice potravina	5				10														
15-961	pšenice potravina	13				21														
15-962	pšenice krmná	41			1	28														
15-965	pšenice potravina	23				6										1				
průměr		19,50	0,12		0,69	22,92	1,46	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04					0,73

Tab. 2: Výskyt jednotlivých taxonů mikroorganismů v zrnech obilovin ošetřená roztokem chloraminu. (% zm v nichž byl daný taxon houby zjištěn)

Číslo vzorku	Taxon houby	Alternaria	Arthrinium	Aspergillus	Cladosporium	Fusarium	Mucor	Penicillium	Rhizopus	Sordaria	steril. myc.
	Druh obiloviny										
15-938	ječmen ozimý	18	0	7	37	6	0	9	0	0	22
15-939	ječmen ozimý	38	5	12	2	12	0	29	0	0	3
15-940	ječmen ozimý krmný	11	2	4	0	10	0	47	25	2	0
15-941	ječmen ozimý krmný	0	2	0	0	1	0	74	25	0	0
15-942	ječmen ozimý dvouřadý (na slad)	13	3	3	0	23	1	43	20	0	0
Průměr		16,0	2,4	3,6	7,8	10,4	0,2	40,4	14	0,4	5

Tab. 3: Identifikované kmeny hub z rodu *Aspergillus* na druhovou úroveň pomocí molekulárně genetických metod (sekvence ITS).

Číslo kmene	Sekce	Nejbližší taxony podle podobnosti sekvencovaného kmene
15-938/7A	flavus	<i>A. parvisclerotigenus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. oryzae</i>
15-938/7PEN1	flavus	<i>A. parvisclerotigenus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. oryzae</i>
15-939/4	flavus	<i>A. parvisclerotigenus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. oryzae</i>
15-939/6A	versicolor	<i>A. versicolor</i> , <i>A. creber</i> , <i>A. cvjetkovicii</i>
15-939/10	versicolor	<i>A. versicolor</i> , <i>A. amoenus</i>
15-942/2A	versicolor	<i>A. versicolor</i> , <i>A. amoenus</i>
15-942/2-1A1	versicolor	<i>A. versicolor</i> , <i>A. amoenus</i>
15-942/2B	ruber	<i>A. cibarius</i> , <i>A. pseudoglaucus</i>
15-942/2C	ruber	<i>A. cibarius</i> , <i>A. pseudoglaucus</i>
15-942/10A1	ruber	<i>A. cibarius</i> , <i>A. pseudoglaucus</i>
15-942/10B	ruber	<i>A. pseudoglaucus</i> , <i>A. cibarius</i> , <i>A. proliferans</i>
15-942/12	ruber	<i>A. cristatus</i> , <i>A. amstelodami</i> , <i>Eurotium heterocaryoticum</i>
15-943/8	ruber	<i>A. cibarius</i> , <i>A. pseudoglaucus</i>
15-943/9-2A	versicolor	<i>A. protuberus</i> , <i>A. amoenus</i>
15-943/9-2B	versicolor	<i>A. protuberus</i> , <i>A. amoenus</i>
15-943/11	ruber	<i>A. amstelodami</i> , <i>A. chevalieri</i> , <i>A. ruber</i>
15-943/11-3BA	versicolor	<i>A. versicolor</i> , <i>A. protuberus</i> , <i>A. amoenus</i>
15-943/12	versicolor	<i>A. versicolor</i> , <i>A. jensenii</i> , <i>A. creber</i> , <i>A. cvjetkovicii</i>
15-943/15-1	ruber	<i>A. cibarius</i> , <i>A. niveoglaucus</i> , <i>A. pseudoglaucus</i>
15-943/15-2	eurotium	<i>A. cibarius</i> , <i>A. pseudoglaucus</i>
15-943/20	versicolor	<i>A. versicolor</i> , <i>A. amoenus</i>
15-948/13A	versicolor	<i>A. versicolor</i> , <i>A. amoenus</i>
15-953/6	versicolor	<i>A. protuberus</i> , <i>A. amoenus</i>
15-958/17-2	ruber	<i>A. cibarius</i> , <i>A. niveoglaucus</i> , <i>A. pseudoglaucus</i>
15-967/1A - C	fumigati	<i>A. fumigatus</i>
15-967/1B	ruber	<i>A. cristatus</i> , <i>A. amstelodami</i> , <i>Eurotium heterocaryoticum</i>
1100/19	versicolor	<i>A. versicolor</i> , <i>creber</i> , <i>cvjetkovicii</i>
Pol 4/5 Asp1	circumdati	<i>A. sclerotiorum</i>
Pol 4/5 Asp2	flavus	<i>A. flavus</i>
Pol 4/5 Asp3	flavus	<i>A. flavus</i>

do zkumavky přidáno 100 µl Tris pufru (5mM Tris/HCl, pH 8,5), 40 µl lyzačního MG pufru obsahující chaotropní sůl guanidin thiokyanát, 10 µl proteinasy K a sterilní nerezová kulička o průměru 5 mm. Zkumavky byly pevně uzavřeny a umístěny do kulového mlýnu MixerMill 400 (Retsch), homogenizace byla nastavena na frekvenci 30 kmitů/min a celkový čas 5 min. Následovala centrifugace (30 s, 11 000 x g) pro odstranění vzorku z víčka. Do stejné zkumavky bylo přidáno 600 µl lyzačního MG pufru, zvortexováno a stočeno (30 s, 11 000 x g). Takto připravený supernatant byl opatrně odebrán a přenesen na vazebnou kolonku. Po navázání byla kolonka ve dvou krocích promyta nejprve 500 µl BW pufru (guanidin thiokyanát, 2-propanol), následně 500 µl B5 pufru obsahující etanol. Před elucí DNA byla kolonka vysušena centrifugací pro odstranění zbytku etanolu. DNA bylo eluováno do 50 µl elučního BE pufru (5mM Tris/HCl, pH 8,5). Integrita celkové izolované DNA byla kontrolována po rozdělení v agarové elektroforese v 1% gelu. Pro identifikaci hub byl zvolen ITS region. Vstupní materiál pro PCR reakce bylo 50 ng celkové DNA. Byl použit komerční 5Prime

mastermix obsahující Taq polymerázu, do kterého byla přidána ultračistá voda a primery o výsledné koncentraci 250 nM.

Pro amplifikaci ITS regionu byly vybrány primery ITS1F a NL4 (O'Donnel 1992, Gardes a Bruns, 1993) s délkou produktu asi 1200 pb a PCR reakce probíhala následovně: denaturace při 95 °C 2 min, 35 cyklů: 95 °C 15 s, 55 °C 30 s, 72 °C 45 s, extenze při 72 °C 1 min.

PCR produkt byl přečištěn PCR clean-up kitem (Mo-Bio), přičemž PCR produkt byl eluován do čisté vody a následně odpařen na vakuové rotační odparce. Vzorek byl resuspendován v 8 µl 0,625 µM příslušného primeru nasedající na 5'-konci (tj. ITS1F, Ben2f nebo CAM5) a poslán na sekvenaci. Získané sekvence byly kontrolovány a porovnány programem Chromas (technelysium.com.au/wp/chromas/) a BioEdit (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>) a porovnány s databází NCBI Blast (www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed).

Výsledky a diskuze

Při povrchovém ošetření zrn obilovin při následném použití roztoků etanolu a chlornanu sodného (tab. č. 1) byly zaznamenány houby z 8 rodů, dále houby ve formě sterilního mycelia a kvasinky. Nejčastěji byly zjištěny druhy z rodů *Fusarium* (22,92 % zrn) a *Alternaria* (19,50 % zrn). Houby z rodu *Aspergillus* byly pozorovány na 0,12 % zrn a houby z rodu *Penicillium* na 1,46 % zrn.

Při povrchovém ošetření zrn obilovin roztokem chloraminu (tab. č. 2) byly zaznamenány houby z 9 rodů a také houby ve formě sterilního mycelia. Nejčastěji byly zjištěny druhy z rodů *Penicillium* (40,40 % zrn), *Alternaria* (16,00 % zrn) *Rhizopus* (14,00 % zrn), *Fusarium* (10,40 % zrn) a *Cladosporium* (7,80 % zrn). Houby z rodu *Aspergillus* byly zjištěny na 3,60 % zrn.

Povrchové ošetření zrn roztokem chloraminu pro zjištění mykobioty používali Tančinová et al. (2009) a Samson et al. (2004). Tančinová et al. (2009) zaznamenali houby z rodu *Penicillium* v 50 % zrn a houby z rodu *Aspergillus* v 26,66 % zrn. Kromě toho uvádí výskyt hub z rodu *Emericella* (anamorfní stadium *Aspergillus*) v 3,33 % zrn a hub z rodu *Eurotium* (anamorfní stadium *Aspergillus*) v 26,66 % zrn.

V námi hodnocených vzorcích (tab. č. 1) byla podobně vysoká četnost výskytu hub z rodu *Penicillium* při ošetření roztokem chloraminu jako v práci Tančinové et al. (2009). Také byl v těchto vzorcích často zjištěn výskyt hub z rodu *Rhizopus*, který se ve vnitřních pletivech vyskytuje minimálně. Při dříve prováděných nepublikovaných výzkumech vnitřní endofytické mykobioty zrn obilovin (jak pšenice, tak ječmene) prvním z autorů (Novotný nepublikováno) byly houby z rodů *Penicillium* a *Aspergillus* zjištěny v četnosti pod 2% a druhy z rodu *Rhizopus* nebyly zaznamenány vůbec. Riesen et Sieber (1985), Crous et al. (1995) a Laran et al. (2002) v různých částech pšenice houby z rodů *Penicillium* a *Aspergillus* zaznamenávali velmi málo. Co je součástí endofytické/endogenní mykobioty, není dlouhodobě zcela jasně definováno. Prezentovaná práce ukazuje, jak velmi metodika primárního povrchového ošetření vzorků zrna ovlivňuje výsledky hodnocení mykobioty. Je otázka, zda při povrchovém

Tab. 4: Identifikované kmeny hub z rodu *Penicillium* na druhovou úroveň pomocí molekulárně genetických metod (sekvence ITS)

Označení kmene	Skupina	Nejbližší taxony podle podobnosti sekvence daného kmene
15-938/17B	camemberti	<i>P. crustosum</i>
15-938/17PEN3	viridicata	<i>P. aurantiogriseum</i> , <i>P. viridicatum</i> , (<i>P. polonicum</i> , <i>P. cordubese</i>)
15-939-1B	Talaromyces	<i>Talaromyces rugulosus</i>
15-939/6B1 - B	Talaromyces	<i>Talaromyces</i> sp.
15-939/6B2	Talaromyces	<i>Talaromyces rugulosus</i>
15-939/15	viridicata	<i>P. aurantiogriseum</i> , <i>P. viridicatum</i> , (<i>P. polonicum</i> , <i>P. cordubese</i>)
15-939/16	citrina	<i>P. citrinum</i> , <i>P. steckii</i> , <i>P. sumatrense</i>
15-939/17	Talaromyces	<i>Talaromyces rugulosus</i>
15-939/19-2	camemberti	<i>P. crustosum</i>
15-942/10A2	exilicaulis	<i>P. chloroleucon</i> , (<i>P. obscurum</i> , <i>P. corylophilum</i>)
15-942/12-1	exilicaulis	<i>P. chloroleucon</i> , (<i>P. obscurum</i> , <i>P. corylophilum</i>)
15-943/11-1	exilicaulis	<i>P. cravenianum</i> , <i>P. momoi</i> , <i>P. consobrinum</i> , <i>P. corylophilum</i> , <i>P. chloroleucon</i>
15-943/17-1	exilicaulis	<i>P. corylophilum</i>
15-944/1B	expansum	<i>P. expansum</i>
15-944/16B1	expansum	<i>P. expansum</i>
15-947/1	citrina	<i>P. citrinum</i>
15-958/2	viridicata	<i>P. freii</i> , <i>P. aurantiogriseum</i> , <i>P. viridicatum</i>
15-958/7	viridicata	<i>P. polonicum</i> , <i>P. cordubense</i>
15-958/14	camemberti	<i>P. crustosum</i>
15-958/17-1	viridicata	<i>P. viridicatum</i>
1100/3	citrina	<i>P. citrinum</i> , <i>P. steckii</i> , <i>P. sumatrense</i>
Pol 2/2 pen	viridicata	<i>P. freii</i>
Pol 2/3 Pen	viridicata	<i>P. aurantiogriseum</i> , <i>P. polonicum</i>
Pol 4/4 Pen	viridicata	<i>P. polonicum</i> , <i>P. aurantiogriseum</i> , <i>P. cellarum</i> , <i>P. cyclopium</i>

ošetření roztokem chloraminu, které je v porovnání s povrchovým ošetřením etanolem a chlornanem, se jedná opravdu o vnitřní mykobiotu obilovin. Na povrchu zrn se nachází velké množství spor různých druhů hub, které pokud mají vhodné podmínky pro klíčení a následný růst mohou vytvořit na agarovém živném mediu kolonie. Záleží pak na to, které druhy jsou rychleji rostoucí a potlačí druhy, které se vyskytují uvnitř zrna, ale které rostou pomaleji.

Mezi námi izolovanými kmeny hub bylo dosud identifikováno 54 kmenů, z nichž 30 kmenů patří do rodu *Aspergillus* a 24 kmenů patří do rodu *Penicillium*. Z rodu *Aspergillus* byly nejčastěji zaznamenány druhy ze skupiny *Aspergillus versicolor*, *A. flavus* a *A. ruber*. (tab. č. 3). Z rodu *Penicillium* s. l. byly nejčastěji zaznamenány druhy ze skupin *Penicillium exilicaulis*. *P. viridicatum*, *P. citrinum*, *P. camemberti*, *P. expansum*, *Talaromyces rugulosus* (tab. č. 4).

Výsledkem použití molekulárně-genetických metod jsou sekvence vybraných úseků nukleových kyselin, jejichž následná identifikace poskytne jméno druhu nebo druhů, jímž je daný kmen podle dané sekvence nejpodobnější.

V případě druhů z rodu *Aspergillus* je překvapující četný výskyt z okruhu druhu *A. versicolor* a skutečnost, že se zřejmě nebude jednat pouze o druh *A. versicolor*, ale i další příbuzné druhy.

Podobně je překvapující četný výskyt druhů ze skupiny *A. ruber*. Mezi kmeny nebyly zjištěny druhy ze skupiny *A. niger* a byly málo znamenány druhy ze skupiny *A. ochraceus*, z níž v naší hodnocené sadě kmenů byl zjištěn pouze druh *A. sclerotiorum*. Tančinová et al. (2009) znamenali z rodu *Aspergillus* sedm druhů z toho nejčastěji druhy *A. flavus* a *A. sydowii*, jeden druh z rodu *Emericella*, čtyři druhy z rodu *Eurotium* a z rodu *Penicillium* identifikovaly 12 druhů z toho nejčastěji druhy *A. flavus*, *P. aurantiogriseum*, *Penicillium griseofulvum* a *P. chrysogenum*.

Mezi zjištěnými druhy z rodu *Penicillium* je jednak překvapující četný výskyt ze skupiny *P. exilicaulis*, kde se bude tak asi jednat o více druhů. Překvapivý je také výskyt druhu *P. expansum*, známého především z ovoce, ale tento druh Tančinová et al. (2009) zjistili také.

Vzhledem k tomu, že během skladování zrna nejsou aktivně žijícím organismem, ale jsou klidovým stadiem, dochází k jejich poškozování abiotickými i biotickými činiteli, čímž jsou zpřístupňovány jako zdroj živin pro houby, které nemají enzymatickou výbavu na využívání složitějších látek. Dá se tedy očekávat, že déle uskladněná zrna budou více kolonizována houbami rodu *Penicillium* a *Aspergillus*, které patří k houbám, které nejsou tak dobře vybaveny pro využití složitějších látek pro svoji výživu, než právě sklizená zrna. Jak se změní druhové spektrum hub z těchto rodů během skladování, je otázka. Určitě je to téma, které stojí za provedení dalšího výzkumu.

Vzhledem k tomu, že za poslední 20 let došlo díky velkému využívání molekulárně biologických metod k rozpoznání velkého množství nových druhů z rodů *Aspergillus* a *Penicillium*, starší informace nejen o výskytu jednotlivých druhů nelze považovat za zcela spolehlivé.

Mezi zjištěnými taxony byly druhy, které jsou schopné produkovat různé mykotoxiny.

Z rodu *Aspergillus* je to v první řadě druh *A. flavus*, produkující aflatoxiny a druh *A. sclerotiorum*, který je schopen produkovat ochratoxiny, a který je znám z ovoce. Je to tedy podobný případ jako druh *P. expansum*, který je znám hlavně z ovoce. (Visagie et al. 2014). Ze zjištěných druhů z rodu *Penicillium* patří mezi známé producenty mykotoxinů druhy *P. citrinum* (citrinin), *P. crustosum* (penitrem, roquefortin), *P. viridicatum* (xantomegnin, viomellein, vioxanthin, and kyselina viridická), *P. expansum* (patulin, citrinin), *P. aurantiogriseum* (kyselina peniciliová, verrucosidin).

Závěr a doporučení do praxe

Podle získaných výsledků je vidět, že pro zhodnocení míry výskytu hub z rodů *Penicillium* a *Aspergillus* na/v zrnech obilovin je důležité, jak bude povrchově ošetřeno zrno. Při různých postupech ošetření zrna se získávají odlišné výsledky. Pro standardní hodnocení je zřejmě nutné vypracovat metodiku, podle které se budou zrna povrchově ošetřovat a bude se v/a nich hodnotit výskyt hub z rodů *Penicillium* a *Aspergillus*. Protože v uplynulých dvaceti letech došlo k velkým taxonomickým změnám v rámci těchto rodů (popsání velkého počtu nových druhů), je nutné s informacemi o výskytu jednotlivých druhů získaných v minulosti velmi

obezřetně pracovat. Ze starších údajů můžeme jako spolehlivé brát informace o výskytu na úrovni sekcí rodů nebo skupinu druhů. Ukazuje se, že jako producenti některých mykotoxinů nemusí být druhy, které byly z obilí dosud uváděny, ale i jiné, které se mají vyskytovat pouze / především na jiných substrátech (ovoce, zelenina).

Vzhledem k velké variabilitě druhů kolonizující zrna obilovin při skladování v silech a jejich rozmanitých nároků (především teplota, vlhkost, nelze jednoduše potlačit růst mikroskopických hub. Také je dobré pokud možno odstranit poničená zrna, ve kterých je velká pravděpodobnost výskytu zárodků kontaminujících hub.

Poděkování a dedikace

Článek byl vypracován za podpory výzkumného projektu Národní agentury zemědělského výzkumu Mze č. QJ1510204.

Kontakt: novotny@vurv.cz, neubauerova@vurv.cz

/Recenzováno/

Seznam použité literatury

Crous P. W., Petrini O., Marais G. F., Pretorius Z. A. et Rehder F. (1995): Occurrence of fungal endophytes in cultivars of *Triticum aestivum* in South Africa. *Mycoscience* 36 (1): 105-111.

Frisvad J. C. et Samson R. A. (2004): Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium* A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. *Studies in Mycology* 49: 1-174

Hong S. B., Go S. J., Shin H. D., Frisvad J. C. et Samson R. A. (2005): Polyphasic taxonomy of *Aspergillus fumigatus* and related species. *Mycologia* 97(6): 1316-1329.

Malíř F., Ostrý V., Bárta I., Buchta V., Dvořáčková I., Paříková J., Severa J. et Škarková J. (2003): Vlákňité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka. – 349 p., Brno

Larran S., Perello A., Simon M. R. et Moreno V. (2002): Isolation and analysis of endophytic microorganisms in wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 18: 683-686.

O'Donnel K. (1992): Ribosomal DNA internal transcribed spacers are highly divergent in the phytopathogenic ascomycete *Fusarium sambucinum* (*Gibberella pulicaris*). *Current Genetics* 22: 213-220.

Riesen T. et Sieber T. (1985): Endophytic fungi in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). - 190 p. Zürich

Samson R. A., Hoekstra E. S. et Frisvad J. C. (eds.) (2004): Introduction to food – and airborne fungi – 389 p., Centraalburau voor Schimmelcultures. Samson R. A., Visagie, C. M., Houbraeken, J., Hong, S. B., Hubka, V., Klaassen, C. H., Perrone, G., Seifert, K. A., Susca A., Tanney J. B. et Varga J. (2014): Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in mycology* 78:141-173.

Tančinová D., Felšöciová S., Dovičičová M., Mašková Z., Labuda R. a Barboráková Z. (2009): Endogénna mykocénóza pšenice so zameraním na druhy rodov *Aspergillus* a *Penicillium* – *Potravinárstvo* 3 (4): 65-68.

Tančinová D., Mašková Z., Dovičičová M., Barboráková Z. a Felšöciová S. (2012): Mykocénóza pšenice – 112 p. Nitra.

Visagie C. M., Varga J., Houbraeken J., Meijer M., Kocsube S., Yilmaz N., Fotedar R., Seifert K. A., Frisvad J. C. et Samson R. A. (2014): Ochratoxin production and taxonomy of the yellow aspergilli (*Aspergillus* section *Circumdati*). *Studies in Mycology* 78: 1-61.



Penicillium citrinum v kultuře



proteus®



Poslední škůdce, který vás může vyvést z míry...

- Proteus účinně chrání vaši řepku, hořčici, obilniny, brambory, cukrovku, hrách a mák
- Proteus působí proti krytonoscům, mšicím, kohoutkům a dalším škůdcům
- Proteus působí rychle, efektivně a reziduálně
- Proteus přináší nové řešení ochrany polních plodin

**Rychlý,
spolehlivý,
účinný**

Science for a **better life**

Používejte přípravky na ochranu rostlin bezpečně. Před použitím si vždy přečtete označení a informace o přípravku. Respektujte varovné věty a symboly.