

## POJAVNOST RŽENEGA ROŽI KA (*Claviceps purpurea* (Fr.) Tul.) V SLOVENIJI NA VRSTAH IZ DRUŽINE TRAV (Poaceae) V LETU 2014

Franci Aco CELAR<sup>1</sup>, Klemen ELER<sup>2</sup>, Breda JAKOVAC STRAJN<sup>3</sup>, Katarina KOS<sup>4</sup>

<sup>1,2,4</sup>Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana

<sup>3</sup>Veterinarska fakulteta, Inštitut za higieno in patologijo prehrane živali, Ljubljana

### IZVLEK

Rženi roži ek je rastlinska bolezen, katere povzročiteljica je gliva *Claviceps purpurea*, ki okužuje plodnice žit in trav. Med gojenimi žiti je rženi roži ek bolj pogost na rži in tritikali kot pa na pšenici, je menu in ovsu. Tujepršne rastline, kot sta rž in tritikala, ter nekatere trave, so bolj ob utljive zato, ker spore patogena lažje dospejo v cvetoče klase. Okužba pšenice in je mena je manj verjetna, ker sta samoprašni vrsti. Številne samonikle in gojene trave so prav tako dovzetne za okužbo. Najbolj ob utljive gostiteljske rastline so tiste, ki dolgo asa in bolj odprt cvetijo. Hladno in vlažno vreme med cvetenjem pospešuje okužbe z askosporami in konidiji. Pogosto so samonikle trave glavni vir spor, ki potem okužujejo žita. Sklerociji rženega roži ka vsebujejo strupene spojine, znane kot ergot alkaloidi. Ti alkaloidi so strupeni za ljudi in živali. Namen naše raziskave je bil ugotoviti razširjenost rženega roži ka na žitih in travah v Sloveniji. Leta 2014 smo na 37 različnih lokacijah z žit in trav pobrali 116 vzorcev rženih roži kov. Prisotni so bili na 22 samoniklih vrstah trav iz 15 rodov (*Elyrtigia*, *Agrostis*, *Alopecurus*, *Arrhenatherum*, *Brachypodium*, *Bromus*, *Calamagrostis*, *Dactylis*, *Festuca*, *Holcus*, *Lolium*, *Molinia Phalaris*, *Phleum* in *Sesleria*). V vzorcih zrnja krmnih žit pa smo našli roži ke tudi na rži, tritikali, pšenici in piri.

206

**Ključne besede:** *Claviceps purpurea*, Poaceae, ergot alkaloidi, žita, Slovenija

### ABSTRACT

#### THE INCIDENCE OF ERGOT (*Claviceps purpurea* (Fr.) Tul.) IN THE SPECIES OF THE GRASS FAMILY (Poaceae) IN SLOVENIA 2014

Ergot is a plant disease caused by the fungus *Claviceps purpurea*, which infects the ovaries of cereals and grasses. Among the cultivated cereals, ergot is more common in rye and triticale than in wheat, barley, and oat. Open-pollinated plants such as rye, triticale and some grasses are more susceptible because of the easy access of pathogen spores into the flowering head. Wheat and barley are less likely to become infected because they are self-pollinated. Many wild and cultivated grasses are also susceptible. The most susceptible hosts are those with prolonged flowering periods and more open florets. Cool, wet weather during flowering favors infection by ascospores and conidia. Often, indigenous grasses are the main source of spores that infect small grain cereals. The ergot sclerotia contain poisonous compounds known as ergot-alkaloids. These alkaloids are toxic to humans and animals. The aim of our research was to assess the prevalence of ergot in cereals and grasses in Slovenia. In year 2014, at 37 different locations, 116 samples of ergot sclerotia were collected in cereals and grasses. Ergot was present in 22 wild species from 15 genera of grasses (*Elyrtigia*, *Agrostis*, *Alopecurus*, *Arrhenatherum*, *Brachypodium*, *Bromus*,

<sup>1</sup> dr., Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana, e-mail: franc.celar@bf.uni-lj.si

<sup>2</sup> doc. dr., prav tam

<sup>3</sup> doc. dr., Cesta v Mestni log 47, SI-1000 Ljubljana

<sup>4</sup> doc. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana

*Calamagrostis, Dactylis, Festuca, Holcus, Lolium, Molinia Phalaris, Phleum and Sesleria*). In samples of feed grain, we find ergot in rye, triticale, wheat and spelt.

**Key words:** *Claviceps purpurea*, Poaceae, ergot alkaloids, cereals, Slovenia

## 1 UVOD

Rženi roži ek je ena izmed redkih rastlinskih bolezni, ki lahko tudi pri loveku in živalih povzroči bolezenske spremembe. Zastrupitve, ki jih povzroči ajo alkaloidi iz rženega roži ka (ergot alkaloidi) pri ljudeh so znane v Evropi že več stoletij pod izrazi žitna božjast, ergotizem in ogenj Sv. Antona. Ergot alkaloidi (EA) povzroči ajo toksične učinky ne samo tudi pri vseh živalskih vrstah (Maekawa, 1991; Haarman *et al.*, 2009).

Povzročiteljica rastlinske bolezni, poimenovane rženi roži ek, je gliva *Claviceps purpurea*, ki okužuje plodnice žita in trav. Gliva najraje okužuje rž, sicer pa tudi druge gospodarsko pomembne vrste iz družine trav (Poaceae), npr. tritikalo, pšenico, je meni in bolj poredko oves ter številne samonikle in sejane trave. Gliva *Claviceps purpurea* okužuje prek 200 vrst trav. Med najpomembnejše rodove gostiteljskih samoniklih trav na njivah in robovih njiv sodijo ljljke (*Lolium*), pirnice (*Elytrigia*), stoklase (*Bromus*), bilnice (*Festuca*), ovsike (*Avenochloa*). Na senih in mokrih travnikih so najpogosteji gostiteljski rodovi samoniklih trav trsti (*Phragmites*), stožke (*Molinia*), šašulice (*Calamagrostis*) in medene trave (*Holcus*). V obeh habitatih pa so pomembni gostiteljski rodovi tudi latovke (*Poa*), lisičji repi (predvsem *Alopecurus myosuroides*), pahovke (*Arrhenatherum*), pasje trave (*Dactylis*) in mačji repi (*Phleum*). Ostali gostiteljski rodovi so še *Danthonia*, *Glyceria*, *Brachypodium*, *Elymus* in *Milium*. Zanimivo pa je, da je roži ek pogosto zastopan tudi na morskem metliju (*Spartina maritima*), ki je izrazit halofit in raste predvsem na solinah (Bové, 1970; Taber, 1985; Haarman *et al.*, 2009). Tujeprašne vrste so bolj dovetne za okužbo, ker cvetijo bolj odprtov in dlje (Maekawa, 1991).

Bolezen je pri naravnih okužbah izredno odvisna od vremenskih razmer, zlasti vlage. Deževno in hladnejše vreme pred in med cvetenjem pospešuje okužbe, ker voda omogoča bruhanje askospor kot njihovo kalitev, pozneje pa tudi širjenje poletnih nespolnih trosov. Obe vrsti spor v sušnem vremenu zelo hitro izgubita kalivost. Vsi dejavniki, ki podaljšujejo cvetenje, pospešujejo okužbo. Bolj so podvržene okužbi tudi sorte, ki cvetijo bolj odprtov (Maekawa, 1991; Tenberge, 1999).

V zadnjih treh letih so sodelavci veterinarske službe v Sloveniji opazili v intenzivnih rejah govejih pitancev klini na znamenja, ki jih do sedaj niso poznali: gangrene repov, gangrene skrotuma, razpokane in odlomljene rogove, šepanje in v koncu ni fazi, kljub zdravljenju, poginutim živalim. V takšnih rejah so izločili možnost kužnih povzročiteljev bolezni ter dejavnikov okolja in se na koncu osredotočili na prehrano. Opisane spremembe bi lahko povzročili ergot alkaloidi, ki jih med drugim tvori gliva *Claviceps purpurea*.

Direktiva 2002/32/ES Evropskega parlamenta in Sveta z dne 7. maja 2002 o nezaželenih snoveh v živalski krmi prepoveduje uporabo proizvodov, namenjenih za živalsko krmo, pri katerih vrednosti nezaželenih snovi presegajo mejne vrednosti iz Priloge I k navedeni direktivi. Za krmo, ki vsebuje nezmleta žita, je bila za sklerocije rženega roži ka (*Claviceps purpurea*) določena mejna vrednost 1000 mg/kg (Direktiva 2002/32/ES).

Rezultati raziskav o vsebnosti EA v sklerocijih rženega roži ka se morajo razlikovati. V zadnji študiji so Franzemann *et al.* (2010) analizirali sklerocije iz različnih območij Nemčije (četek 2005-2009). Koncentracija EA je med vzorci variirala od 115 do 2362 µg/g (0,01 - 0,24%), srednja vrednost je bila 757 µg/g (0,076%). Mulder *et al.* (2012) so analizirali 48 vzorcev sklerocijev, ki so jih zbrali v letih 2008-2010; iz rži (32), tritikale (14), pšenice (1) in je mena (1). Žita so bila pridelana na Nizozemskem in v Nemčiji. Povprečna koncentracija

EA za sklerocije iz rži je bila 521 µg/g (0,052 %) in za sklerocije iz tritikale 959 µg/g (0,096 %). Povpre na koncentracija EA v vseh 48 vzorcih je bila 659 µg/g (0,066 %).

Raziskav o zastopanosti rženega roži ka na gojenih žitih in samoniklih travah v Sloveniji do sedaj ni bilo. Namenski raziskave je bil ugotoviti razširjenost rženega roži ka na gojenih žitih in samoniklih travah v Sloveniji ter kakšna je onesnaženost žitnega zrnja z ergot alkaloidi.

## 2 MATERIALI IN METODE

Na samoniklih travah smo ržene roži ke najprej iskali na travnikih, ki pripadajo kmetijskim obratom, kjer so se na govejih pitancih pojavila klini na znamenja zastrupitve z ergot alkaloidi, potem pa smo vzor enje razširili tudi na druge lokacije po Sloveniji. Na samoniklih travah smo ržene roži ke tako našli na 37 lokacijah, kjer smo odvzeli 113 vzorcev za nadaljnje analize.

Za ugotavljanje prisotnosti ergot alkaloidov (EA) v zrnju žit smo s pomojo Kmetijsko svetovalne službe in drugih posameznikov zbrali skupaj 173 vzorcev različnih žit; rž (16), oves (8), pira (7), pšenica (72), je men (41), tritikala (29). Vzorci žit so bili tako iz integrirane kot ekološke pridelave. S pomojo ELISA-testa smo najprej v vzorcih ugotovili prisotnost oziroma odsotnost ergot alkaloidov, nato pa smo pozitivne vzorce tudi fizično pregledali, izloili ržene roži ke, jih stehtali ter izračunali njihov utežni delež v celotnem vzorcu.

## 3 REZULTATI IN RAZPRAVA

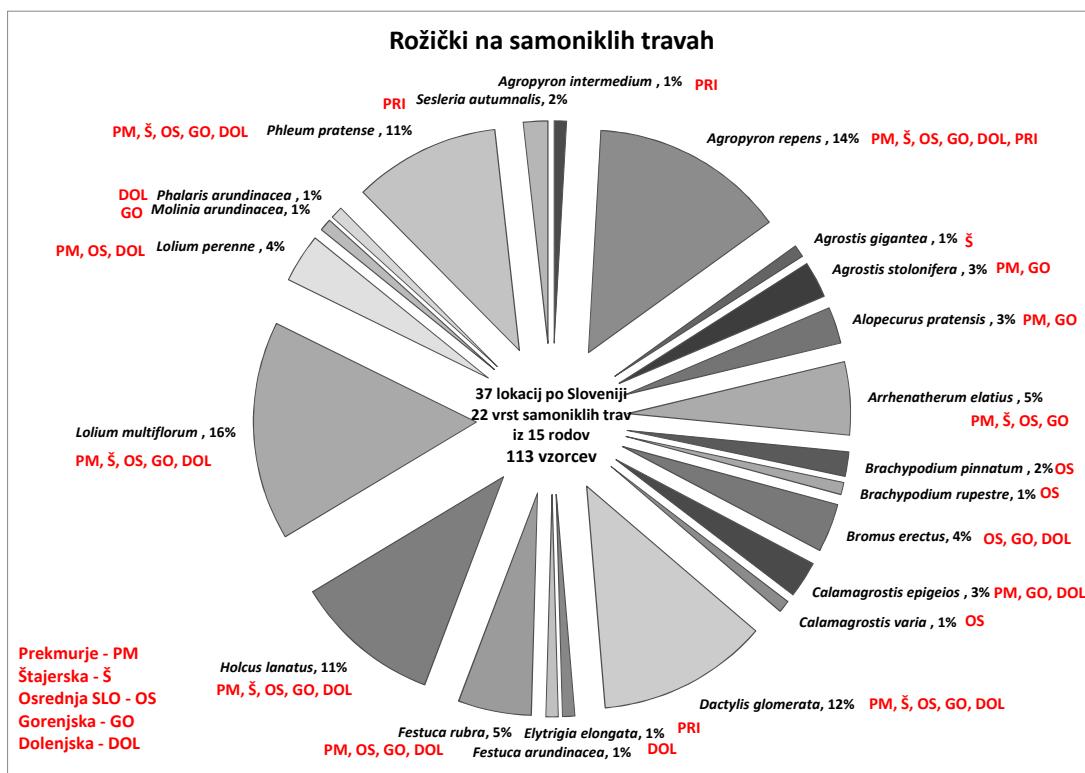
Na sliki 1 je prikazan delež posameznih vrst samoniklih trav, na katerih smo v letu 2014 našli ržene roži ke. Našli smo jih na 22 vrstah trav iz 15 različnih rodov.

208

Preglednica 1: Deleži posameznih rodov trav, na katerih so bili najdeni rženi roži ki v letu 2014.

ROD – lat.	ROD – slo.	%	ROD – lat.	ROD – slo.	%
<i>Elytrigia</i> ( <i>Agropyron</i> )	pirnica	16	<i>Holcus</i>	medena trava	11
<i>Agrostis</i>	šopulja	4	<i>Lolium</i>	ljuljka	20
<i>Alopecurus</i>	lisi ji rep	3	<i>Molinia</i>	stožka	1
<i>Arrenatherum</i>	pahovka	5	<i>Phalaris</i>	užka	1
<i>Brachypodium</i>	glota	3	<i>Phleum</i>	ma ji rep	11
<i>Bromus</i>	stoklasa	4	<i>Sesleria</i>	vilovina	2
<i>Calamagrostis</i>	šašulica	4			
<i>Dactylis</i>	pasja trava	12			
<i>Festuca</i>	bilnica	5			

Najpogosteje smo našli ržene roži ke na ljuljkah (20 % vseh vzorcev), pirnicah (16 %), pasji travi (12 %) ter pasji in medeni travi (11 %) (preglednica 1). Našli smo jih na travah, ki cvetijo zelo zgodaj in na tistih, ki cvetijo v drugem delu leta (npr. jesenska vilovina). Predvidevamo, da se okužba med rastno dobo prenaša predvsem z nespolnimi trosi (konidiji) iz zgodaj cvetočih na pozneje cvetoče trave.



Slika 1: Vrste trav, na katerih so bili najdeni ržni roži ki in njihov delež (%) ter območja najdb v letu 2014.

209

Preglednica 2: Število vzorcev posameznih vrst žit iz leta 2014, ki so bili pozitivni ozziroma negativni na vsebnost ergot alkaloidov (EA) glede na rezultate ELISA-testa in odstotek onesnaženih vzorcev (senene vrstice v preglednici).

Vrsta žita	Št. vzorcev	% z EA
RŽ	8	<b>50</b>
RŽ	8	
OVES	4	<b>50</b>
OVES	4	
PIRA	4	<b>57</b>
PIRA	3	
PŠENICA	20	<b>28</b>
PŠENICA	52	
JE MEN	3	<b>7</b>
JE MEN	38	
TRITIKALA	8	<b>28</b>
TRITIKALA	21	
	173	<b>27</b>

Po rezultatih analiz, prikazanih v preglednici 2, je bilo z ergot alkaloidi onesnaženih kar 27 % vseh pregledanih vzorcev žit. Pri rži, ovsu in piri je ta delež dosegel 50 in več odstotkov, pri pšenici in tritikali 28 % ter najmanj pri je menu, 7 %. V raziskavi Diana di Movungu *et al.* (2011) so analizirali na prisotnost EA 312 vzorcev žit (rž [148], tritikala [27], pšenica [137] pridobljenih v letih 2009-10 iz vseh držav ES. Od vseh vzorcev je bilo pozitivnih 52 % vzorcev rži, 48 % tritikale in 34 % pšenice. Podobno raziskavo so izvedli tudi Mulder in sod., ki so

analizirali 132 vzorcev žit (rž [69], tritikala [45], pšenica [18]) pridelanih na Nizozemskem in v Nemčiji. Z EA je bilo kontaminiranih 54 % vzorcev rži, 45 % tritikale in 39 % pšenice. Ko primerjamo te rezultate z našimi, ugotovimo, da so bili naši vzorci tritikale za 17 do 20 odstotnih točk manj onesnaženi z EA in pri pšenici za 6-11 odstotnih točk. Najmanjša razlika je bila pri onesnaženosti vzorcev rži z EA, kjer je so bili vzorci iz prej omenjenih raziskav le za 2 do 4 odstotne točke bolj onesnaženi.

Po vizualnem pregledu vzorcev smo ugotovili, da večina roži kov (razen pri rži) ne izvira iz okuženega žita, temveč od okuženih samoniklih trav, ki rastejo kot plevel med žitom. Iz tega sledi, da bomo morali v prihodnje več pozornosti posvetiti izboljšanju metod za uinkovito inšenje žitnega zrnja po žetvi, tudi tistega namenjenega krmi za živali, kar pa do sedaj ni bila ustaljena praksa.

#### 4 ZAHVALA

Raziskave so bile narejene v okviru CRP projekta Pojavljanje toksičnih substanc v slovenski krmi, V4-1403 (2014-17) in raziskovalnega programa Zdravje živali, okolje in varna hrana (P-0092), ki sta financirana s strani MKGP in ARRS, za kar se iskreno zahvaljujemo.

#### 5 LITERATURA

- Bové, F.J. 1970. The story of ergot. Ed Karger S. Basel & New York, 297 str.
- Diana Di Mavungu, J.D., Larionova, D.A., Malysheva, S.V., Van Peteghem, C., De Saeger, S. 2011. Survey on ergot alkaloids in cereals intended for human consumption and animal feeding. Scientific report submitted to EFSA. <http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/214e.html>
- Direktiva 2002/32/ES Evropskega parlamenta in Sveta z dne 7. maja 2002 o nezaželenih snoveh v živalski krmi, 2002. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2002L0032:20131227:SL:HTML>
- Franzmann, C., Wachter, J., Dittmer, N., Humpf, H.U. 2010. Ricinoleic acid as a marker for ergot impurities in rye and rye products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58: 4223-4229.
- Haarmann, T., Rolke, Y., Giesbert, S., Tudzynski, P. 2009. Ergot: from witchcraft to biotechnology. Molecular Plant Pathology, 10: 563-577.
- Maček, J. 1991. Posebna fitopatologija, Patologija poljščin. 3. izd. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, Agronomski oddelok: 285 str.
- Mulder P.P.J., van Raamsdonk, L.W.D., van Egmond, H.J., van der Horst, T., de Jong, J., 2012. Ergot alkaloids and sclerotia in animal feeds. Dutch survey 2007-2010.RIKILT report 2012.005.: 50 str.
- Taber, W.A. 1985. Biology of Claviceps . In: Biotechnology Series , Vol.6, Biology of Industrial Microorganisms (Demain, A.L. and Nadine, A.S., eds), New York: The Benjamin Cummings Publishing Co., Inc.: 449–486.
- Tenberge, K.B. 1999. Biology and life strategy of the ergot fungi. In: Ken, V., Cvak, L., editors. Ergot, the Genus Claviceps. Medicinal and Aromatic Plants, Vol. 6. Amsterdam, The Netherlands: Harwood Academic Publishers:25–50.