

MICHAŁ PIEGZA, REGINA STEMPNIEWICZ, DANUTA WITKOWSKA

**WPŁYW METABOLITÓW *GEOTRICHUM CANDIDUM*
NA WZROST *FUSARIUM***

Streszczenie

Przedmiotem badań były mikrohodowle 3 gatunków grzybów *Fusarium*: *Fusarium culmorum*, *F. graminearum* i *F. avenaceum* prowadzone w zautomatyzowanym aparacie Bioscreen C. W mikrohodowlach oceniano wpływ metabolitów drożdży *Geotrichum candidum* pochodzących z hodowli tych drożdży z dodatkiem biomasy grzybów *Fusarium* na wzrost tych grzybów. W celu zróżnicowania białkowych i niebiałkowych czynników płyny pohodowlane drożdży (supernatanty), dodawano zarówno nieinaktywowane jak i poddane inaktywacji w temp. 95°C przez 20 min. Wykazano antagonistyczną aktywność badanych metabolitów *G. candidum* w stosunku do reprezentantów 2 gatunków: *F. graminearum* i *F. culmorum*, natomiast stymulującą wobec *F. avenaceum*. Metabolity drożdży wydłużały czas kiełkowanie zarodników grzybów (lag-fazę) nawet do 34 godz. w porównaniu z hodowlą kontrolną (bez dodatku płynów). Również plon biomasy był znacznie zmniejszony w hodowlach zawierających metabolity drożdży. Szczep stymulowany (*F. avenaceum* 1) w obecności metabolitów rósł znacznie szybciej (do 60%) i efektywniej (do 25%) niż w hodowli kontrolnej. Hamujące działanie płynów pohodowlanych może być wynikiem obecności w nich aktywnych metabolitów, jak i enzymów produkowanych przez drożdże.

Słowa kluczowe: *Geotrichum candidum*, *Fusarium*, inhibicja

Wstęp

Surowce i produkty żywnościowe stanowią doskonałe środowisko do rozwoju drobnoustrojów. Rosnące zainteresowanie i świadomość spożywania produktów spożywczych o jak najlepszej jakości pociąga za sobą konieczność ciągłej poprawy bezpieczeństwa żywności. Poczynając od surowców, zwraca się uwagę na ewentualną obecność w nich związków chemicznych pochodzenia mikrobiologicznego o niekorzystnym lub wręcz szkodliwym działaniu na zdrowie konsumenta. Takimi związkami są m.in. mikotoksyny wytwarzane przez grzyby rodzajów *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium*. Grzyby te licznie zasiedlają ziarna zbóż, w tym ziarna jęczmienia – podstawowy surowiec do produkcji słodu. Poszukuje się bezpiecznych i

skutecznych metod ograniczenia rozwoju niepożądanego mikroflory, w tym grzybów toksynotwórczych.

Od kilku lat, z pozytywnym skutkiem, prowadzi się badania nad wykorzystaniem drożdży *Geotrichum candidum*, jako kultur starterowych w procesie słodowania jęczmienia. Boivin i Malanda [1] oraz Dziuba i wsp. [2, 3, 4] wykazali, że drożdże *G. candidum* wprowadzone do słodowania jako szczepionki hamowały wzrost grzybów, w tym rodzaju *Fusarium*, co w efekcie wpłynęło korzystnie na jakość i zdrowotność słodu. Ograniczenie wzrostu grzybów toksynotwórczych było wynikiem konkurencji o składniki pokarmowe i przestrzeń życiową [1, 8, 9, 10, 13]. Natomiast inni autorzy [7, 15] informują o antagonistycznym oddziaływaniu metabolitów wytwarzanych przez drożdże *G. candidum*, takich jak: trimetyloamina, kwas D-3-indolilomlekowy i kwas 3-fenylomlekowy, na wzrost bakterii patogennych *Listeria monocytogenes* oraz grzybów rodzaju *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium*. Okebe i wsp. [11] podają, że hamowanie wzrostu grzybów patogennych może być spowodowane działaniem enzymów litycznych degradujących biopolimery β -(1,3)(1,6)-glukanów ścian komórkowych grzybów. Nielsen i wsp. [10] wykazali, że drożdże *G. candidum* ograniczały wytwarzanie mikotoksyn, takich jak: kwas mykofenolowy, rokefortyna, chaetoglobozyna i kwas cyklopiazonowy. Grzyby, poza wytwarzaniem niebezpiecznych dla zdrowia człowieka mikotoksyn, są producentami licznych enzymów hydrolitycznych, które mogą znacznie podnosić aktywność enzymatyczną słodu, szczególnie proteolityczną i lipolityczną, obniżając jego jakość, a w konsekwencji jakość piwa.

Celem badań była ocena wpływu płynów po hodowli *Geotrichum* na wzrost trzech szczepów *Fusarium*, reprezentujących 3 różne gatunki.

Materiały i metody badań

Mikroorganizmy

Użyto szczepów rodzaju *Fusarium*: *F. avenaceum* 1 (F1), *F. culmorum* M292 (F2), *F. graminearum* KF375 (F3). Grzyby pochodziły z kolekcji Instytutu Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego Akademii Rolniczej w Poznaniu.

Płyny pochodzące z hodowli drożdży Geotrichum candidum

Badaniom poddano 8 szczepów drożdży *Geotrichum candidum* różnego pochodzenia, w tym ze słodu: *G. candidum* SS32B1 (B1), *G. candidum* SS47D2 (D2), *G. candidum* MSK₃11 (3-11), z serów z przerostem pleśni: *G. candidum*1 (OL), *G. candidum* Sc12 (Sc12) *G. candidum* KB5 (X5), *G. candidum* KB6 (X6) oraz z piór kurzych: *G. candidum* PH (PH). Poszczególne szczepy drożdży hodowano w podłożu PDA z dodatkiem 0,5% s.s. biomasy każdego z 3 szczepów *Fusarium*. Hodowle prowadzono w kolbach o poj. 250 ml, w 50 ml podłoża przy 168 rpm na wytrząsarce

G10-Gyrotory Shaker (New Brunswick Co) przez 7 dni w temp. 28–30°C. Hodowle odwirowywano, dodatkowo sączono przez sączki 0,2 µl Millipore w celu uzyskania klarownego i jałowego supernatantu. Do mikrohodowli dodawano supernatant albo bez inaktywacji, albo po inaktywacji termicznej (95°C/20 min) mającej na celu wyeliminowanie białkowych związków biologicznie czynnych, szczególnie enzymów.

Warunki mikrohodowli grzybów rodzaju *Fusarium*

Mikrohodowle grzybów rodzaju *Fusarium* prowadzono w aparacie Bioscreen C, zautomatyzowanym urządzeniu pozwalającym na ciągłe śledzenie przebiegu procesu, w 200 hodowlach jednocześnie, z równoczesnym wyznaczeniem krzywych wzrostu badanych mikroorganizmów. Hodowle zawierały: 300 µl podłoża PDA, 50 µl supernatantu i 10 µl zawiesiny zarodników *Fusarium* (wystandaryzowanej przy użyciu komory Thoma, do wartości 10⁶ kom/ml zarodników na początku hodowli). W hodowlach kontrolnych zamiast supernatantu dodawano 50 µl podłoża PDA.

Uzyskane krzywe wzrostu poddano analizie, wyznaczając wybrane parametry kinetyki wzrostu: długości lag-fazy, maksymalną szybkość właściwą wzrostu (μ) i plon biomasy, wyrażony jako pole pod krzywą wzrostu.

W pracy zastosowano skróty określające pochodzenie supernatantów: np. F1OI oznacza, że jest to supernatant uzyskany po hodowli węgłbnej drożdży *G. candidum* I (OI) z dodatkiem biomasy *F. avenaceum* (F1).

Wyniki i dyskusja

W pracy badano oddziaływanie metabolitów *Geotrichum candidum* na wzrost występujących najczęściej na ziarnie zbóż gatunków grzybów: *Fusarium graminearum*, *F. culmorum* i *F. avenaceum*. Do hodowli drożdży wprowadzono inaktywowaną termicznie biomasę ww. gatunków grzybów, jako induktorów enzymów litycznych [5]. Uzyskane płyny po hodowli drożdży, po oddzieleniu biomasy, zarówno inaktywowane termicznie, jak i surowe wprowadzono do mikrohodowli grzybów. Badano wzrost grzybów *Fusarium* oceniając parametry kinetyki wzrostu.

Wykazano antagonistyczne oddziaływanie metabolitów drożdży *G. candidum* na wzrost dwóch badanych gatunków grzybów: *F. graminearum* i *F. culmorum*, natomiast stymulujące działanie na wzrost *F. avenaceum*. Z piśmiennictwa wynika, że dwa pierwsze szczepy są producentami deoksyniwalenolu, niwalenolu i zearaelonu, a trzeci szczep *F. avenaceum* – moniliforminy [6].

Najbardziej wrażliwym na obecność metabolitów drożdży w środowisku hodowlanym okazał się szczep *F. graminearum* KF 375, w przypadku którego metabolity wszystkich badanych drożdży wpływały niekorzystnie na parametry kinetyki wzrostu tego szczepu, wydłużając, w porównaniu z próbą kontrolną, długość lag fazy, zwiększając plon biomasy i maksymalną szybkość wzrostu. Zaobserwowano wydłużenie czasu kiełkowania zarodników (lag-fazę) szczepu *F. graminearum* KF375 od 1 do 34,5 godz., w porównaniu z czasem kiełkowania konidiów w hodowli

kontrolnej, zarówno przy udziale inaktywowanych płynów, jak i nie inaktywowanych. Najbardziej aktywne były metabolity bez inaktywacji termicznej dwóch szczepów drożdży *G. candidum*: PH i MSK₃11 otrzymane odpowiednio w obecności biomasy *F. culmorum* (F2PH) i *F. graminearum* (F3_3-11) (tab. 1).

Tabela 1

Czas trwania lag-fazy w zależności od badanego szczepu drożdży i induktora enzymów litycznych [godz.].

The duration time of a lag-phase depending on the yeast strain studied, and on an inductor of lytic enzymes [h].

| Supernatant | Szczep / strain | <i>F. avenaceum</i> I (F1) | | <i>F. culmorum</i> M292 (F2) | | <i>F. graminearum</i> KF375 (F3) | |
|---|-----------------|---|---|---|------|---|------|
| | | Hodowla kontrolna – 7 godz control culture – 7 h | | Hodowla kontrolna – 19 godz control culture – 19 h | | Hodowla kontrolna – 18 godz control culture – 18 h | |
| | | A | B | A | B | A | B |
| F1OL | | 7 | 7 | 23 | 21,5 | 22,5 | 32 |
| F1B1 | | 7 | 7 | 21 | 22,5 | 20 | 18 |
| F1PH | | 7 | 7 | 21,5 | 24,5 | 22,5 | 18 |
| F1D2 | | 7 | 7 | 22 | 19 | 31,5 | 34 |
| F1_3-11 | | 7 | 7 | 21 | 21,5 | 20,5 | 17,5 |
| F1X5 | | 7 | 7 | 19,5 | 25 | 17 | 21,5 |
| F1X6 | | 7 | 7 | 20,5 | 23 | 17,5 | 38 |
| F2OL | | 7 | 7 | 19 | 22 | 23 | 33 |
| F2B1 | | 7 | 7 | 22 | 19,5 | 21 | 23 |
| F2PH | | 7 | 7 | 22 | 16,5 | 44 | 22 |
| F2Sc12 | | 7 | 7 | 17,5 | 18 | 18 | 24 |
| F2D2 | | 7 | 7 | 19,5 | 21 | 29 | 21 |
| F2_3-11 | | 7 | 7 | 22 | 28,5 | 29 | 25 |
| F2X5 | | 7 | 7 | 28,5 | 25,5 | 26 | 21,5 |
| F2X6 | | 7 | 7 | 23 | 21 | 18,5 | 20 |
| F3OL | | 7 | 7 | 20,5 | 23 | 20 | 20 |
| F3B1 | | 7 | 7 | 29 | 20 | 19,5 | 21 |
| F3Sc12 | | 7 | 7 | 20 | 19 | 17,5 | 29 |
| F3D2 | | 7 | 7 | 18,5 | 18 | 30 | 24 |
| F3_3-11 | | 7 | 7 | 25 | 29,5 | 52,5 | 20 |
| A – płyn bez inaktywacji termicznej / liquid without the thermal inactivation performed B – płyn po inaktywacji termicznej / liquid after the thermal inactivation performed | | | | | | | |

Metabolity badanych szczepów drożdży zmniejszyły plon biomasy (tab. 2) od 10 do 40% (F3_3-11), a szybkość właściwą wzrostu (tab. 3) *F. graminearum* nawet od 6 do 80% (F3_3-11) w porównaniu z hodowlami kontrolnymi. Silniejszą aktywnością antagonistyczną charakteryzowały się metabolity bez obróbki termicznej, głównie (F2_3-11), (F2PH) i (F3_3-11), co sugeruje, że enzymy występujące w supernatancie mogły mieć wpływ na hamowanie wzrostu szczepu *F. graminearum* KF375. Po

inaktywacji termicznej (unieczynnione enzymy) obserwowano zwiększenie plonu biomasy i szybkości właściwej wzrostu (tab. 2).

Tabela 2

Plon biomasy grzybów *Fusarium* w zależności od badanego szczepu drożdży i induktora enzymów litycznych w porównaniu z hodowlą kontrolną [%].

The biomass yield of *Fusarium* depending on the yeast strain studied, and on an inductor of lytic enzymes, and compared to the control culture [%].

| Supernatant | Szczep Strain | <i>F. avenaceum</i> 1 (F1) | | <i>F. culmorum</i> M292 (F2) | | <i>F. graminearum</i> KF375 (F3) | |
|---|---------------|----------------------------|-------|------------------------------|-------|----------------------------------|-------|
| | | A | B | A | B | A | B |
| F1OL | | 113,9 | 106,5 | 100,2 | 109,3 | 145,5 | 110,8 |
| F1B1 | | 126,9 | 111,6 | 144,1 | 101,1 | 176,9 | 135,9 |
| F1PH | | 118,1 | 100,6 | 99,3 | 88,5 | 129,0 | 141,9 |
| F1D2 | | 104,2 | 107,5 | 112,9 | 107 | 91,1 | 90,2 |
| F1_3-11 | | 111,8 | 100,1 | 97,8 | 96,9 | 90,6 | 93,1 |
| F1X5 | | 115,3 | 112,9 | 119,7 | 97,6 | 127,0 | 91,1 |
| F1X6 | | 109,5 | 118,4 | 119,0 | 100,1 | 81,8 | 80,5 |
| F2OL | | 107,7 | 100,6 | 107,2 | 105,3 | 80,8 | 93,1 |
| F2B1 | | 114,9 | 103,9 | 98,1 | 99,5 | 80,7 | 73,7 |
| F2PH | | 112,0 | 109,8 | 101,2 | 117,6 | 68,0 | 74,6 |
| F2Sc12 | | 118,5 | 116,1 | 95,6 | 99,5 | 109,5 | 68,5 |
| F2D2 | | 105,0 | 90,9 | 99,0 | 91,6 | 90,0 | 71,0 |
| F2_3-11 | | 118,5 | 119,3 | 109,6 | 107,1 | 72,9 | 95,1 |
| F2X5 | | 120,1 | 119,2 | 98,4 | 126,9 | 88,9 | 89,4 |
| F2X6 | | 126,7 | 116,7 | 102,7 | 113,3 | 132,1 | 95,1 |
| F3OL | | 122,4 | 117,1 | 108,4 | 107,0 | 97,3 | 97,1 |
| F3B1 | | 113,5 | 126,0 | 91,4 | 99,6 | 115,9 | 92,2 |
| F3Sc12 | | 124,2 | 117,5 | 99,1 | 117,2 | 144,5 | 94,2 |
| F3D2 | | 114,7 | 113,2 | 109,0 | 101,2 | 90,4 | 69,3 |
| F3_3-11 | | 116,3 | 116,9 | 68,4 | 81,0 | 59,9 | 94,6 |
| A – płyn bez inaktywacji termicznej / liquid without the thermal inactivation performed | | | | | | | |
| B – płyn po inaktywacji termicznej / liquid after the thermal inactivation performed | | | | | | | |

Tabela 3

Maksymalna szybkość właściwa wzrostu poszczególnych szczepów *Fusarium* w zależności od stosowanego supernatantu i induktora enzymów litycznych w porównaniu z hodowlą kontrolną [%].

The maximum specific rate of growth of *Fusarium* strains depending on a supernatant and inductor of lytic enzyme used, and compared to the control cultures [%].

| Supernatant | Szczep Strain | <i>F. avenaceum</i> 1 (F1) | | <i>F. culmorum</i> M292 (F2) | | <i>F. graminearum</i> KF375 (F3) | |
|---|---------------|----------------------------|-----|------------------------------|-----|----------------------------------|-----|
| | | A | B | A | B | A | B |
| F1OL | | 87 | 137 | 98 | 116 | 89 | 31 |
| F1B1 | | 122 | 101 | 104 | 86 | 101 | 88 |
| F1PH | | 127 | 100 | 91 | 86 | 76 | 70 |
| F1D2 | | 103 | 103 | 108 | 97 | 27 | 31 |
| F1_3-11 | | 104 | 99 | 114 | 78 | 88 | 65 |
| F1X5 | | 105 | 102 | 129 | 94 | 97 | 76 |
| F1X6 | | 103 | 100 | 117 | 79 | 63 | 39 |
| F2OL | | 104 | 99 | 97 | 115 | 66 | 30 |
| F2B1 | | 100 | 101 | 93 | 105 | 76 | 70 |
| F2PH | | 102 | 102 | 89 | 117 | 34 | 85 |
| F2Sc12 | | 103 | 102 | 96 | 114 | 121 | 102 |
| F2D2 | | 99 | 99 | 109 | 124 | 61 | 100 |
| F2_3-11 | | 99 | 108 | 112 | 78 | 55 | 77 |
| F2X5 | | 123 | 168 | 86 | 134 | 68 | 60 |
| F2X6 | | 106 | 107 | 112 | 115 | 95 | 94 |
| F3OL | | 104 | 104 | 93 | 89 | 88 | 87 |
| F3B1 | | 105 | 105 | 94 | 82 | 101 | 89 |
| F3Sc12 | | 107 | 103 | 84 | 122 | 109 | 63 |
| F3D2 | | 105 | 103 | 112 | 83 | 35 | 77 |
| F3_3-11 | | 102 | 105 | 57 | 65 | 20 | 90 |
| A – płyn bez inaktywacji termicznej / liquid without the thermal inactivation performed | | | | | | | |
| B – płyn po inaktywacji termicznej / liquid after the thermal inactivation performed | | | | | | | |

Drugi badany szczep: *F. culmorum* M292 w hodowlach reagował na obecność metabolitów z płynów wydłużeniem fazy spoczynkowej o 1,5–10 godz (F2_3-11, F2X5, F3_3-11) (tab.1) i nieznacznym zmniejszeniem szybkości właściwej wzrostu (tab. 3). Plon biomasy w przypadku tego szczepu *Fusarium* zmniejszyły tylko metabolity szczepu *G. candidum* MSK₃₁₁ po hodowli z dodatkiem biomasy (F3) (o 19 do 31,6%), natomiast w pozostałych przypadkach metabolity stymulowały lub nie miały wpływu na wzrost *F. culmorum* (tab. 2)

Metabolity wszystkich badanych szczepów drożdży stymulowały wzrost *F. avenaceum* 1, zwiększając plon biomasy od 0,1 do 26,7 % (F2X6) (tab. 2) i szybkość właściwą wzrostu od 2 do 68% (F2X5) (tab. 3), natomiast nie miały wpływu na kiełkowanie zarodników (długość lag-fazy) (tab. 1).

Większe ograniczenie wzrostu badanych szczepów grzybów *Fusarium* w obecności supernatantów drożdży *G. candidum* (nie inaktywowanych) może sugerować udział enzymów litycznych w mieszaninie aktywnych metabolitów w hamowaniu wzrostu wymienionych grzybów.

Powyższe badania potwierdziły wcześniejsze obserwacje [13], w których autorzy udokumentowali udział konkurencji w hamowaniu wzrostu grzybów rodzaju *Fusarium*. W niniejszej pracy większą uwagę skierowano na bliższą charakterystykę czynników wpływających na zahamowanie wzrostu grzybów *Fusarium*, w tym białkowych (prawdopodobnie enzymów litycznych) biorących udział w degradacji ścian komórkowych grzybów [11] lub niebiałkowych. Wcześniejsze badania autorów tej pracy (dane niepublikowane) wykazały wpływ biomasy grzybów *Fusarium* na zwiększenie aktywności litycznej drożdży *G. candidum*. Liczni autorzy wykazali także zdolność *G. candidum* do produkcji lotnych metabolitów [14, 16], mających antagonistyczne oddziaływanie na pleśnie różnych rodzajów [15]. Ci sami autorzy równocześnie zwracają uwagę, że część tych związków, stanowiących źródło łatwo przyswajalnego azotu, może stymulować wzrost pleśni. Zachowanie badanych szczepów *Fusarium* zdaje się potwierdzać te tezy, szczególnie w sytuacji, kiedy zastosowano płyny po obróbce termicznej, a więc pozbawione czynnych związków białkowych, a zawierające czynne związki niebiałkowe.

Wykazano, że spośród badanych szczepów drożdży, szczególnie kultury *G. candidum PH1* i *G. candidum MSK₃11* oraz *G. candidum SS47D₂*, można wstępnie zaproponować jako kultury starterowe, stanowiące skuteczną biologiczną ochronę słoðu przez rozwojem grzybów toksynotwórczych, a w konsekwencji przed skażeniem słoðu mikotoksynami.

Wnioski

1. Drożdże *Geotrichum candidum* wytwarzały metabolity o antagonistycznym działaniu wobec 2 gatunków grzybów: *Fusarium graminearum* i *F. culmorum* natomiast stymulującym wobec *F. avenaceum*
2. Największą wrażliwością na metabolity charakteryzował się szczep *F. graminearum KF375*, co objawiało się niskim plonem biomasy i wartości maksymalnej szybkości właściwej wzrostu oraz wydłużeniem lag-fazy.
3. Większą aktywność antygrzybową z reguły przejawiały metabolity niepoddane obróbce termicznej, co może wskazywać na udział w tym procesie obecnych w płynach pochodowlanych drożdży enzymów litycznych.
4. Najlepszym induktorem do syntezy związków antygrzybowych okazała się biomasa *F. culmorum M292*.
5. Najsilniejszym antagonistycznym oddziaływaniem wobec *Fusarium* charakteryzowały się metabolity 3 szczepów *Geotrichum*: *G. candidum MSK₃11*, *G. candidum PH* oraz *G. candidum SS47D₂*. Wymienione szczepy mogą być wykorzystane jako kultury starterowe w słodownictwie

Literatura

- [1] Boivin P., Malanda M.: Improvement of malt quality and safety by adding starter culture during the malting process. *Technical Quarterly*, 1997, **34**, **2**, 96-101.
- [2] Dziuba E., Wojtatowicz M., Stempniewicz R., Foszczyńska B.: The use of *Geotrichum candidum* starter cultures in malting of brewery barley. *Food Biotechnology*, 2000, 311-315.
- [3] Dziuba E., Wojtatowicz M., Stempniewicz R., Foszczyńska B.: Kultury starterowe jako czynnik ograniczający aktywność epifitycznej mikroflory jęczmienia i słodu. *Biotechnologia*, 1999, **2(45)**, 167-175.
- [4] Dziuba E., Wojtatowicz M., Stempniewicz R., Foszczyńska B.: Zastosowanie kultur starterowych w procesie słodowania ziarna pszenżyta. *Mat. Konferencji Nauk.*, Sielinko, 1998, s. 14-19.
- [5] Fuglsang CC., Johansen Ch., Christgans S., Adler-Nissen J.: Antimicrobial enzymes: Application and future potential in the food industry, *Trends Food Sci. Technol.*, 1995, vol. 6, pp. 390-396
- [6] Galiński P., Perkowski J.: Zanieczyszczenia zbóż i pasz mykotoksynami. Stan aktualny i perspektywy rozwoju wybranych dziedzin produkcji pasz. Tom 6 pod red. J. Warchalewskiego, rozdz. 4. Wyd. PTTŻ Oddział Wielkopolski, Poznań 1998, s. 108-117.
- [7] Jollivet N., Chataud J., Vayssier Y., Bensoussan M.: Production of volatile compounds in model milk and cheese media by eight strains of *Geotrichum candidum* Link. *J. Dairy Res.*, 1994, **61**, 241-248.
- [8] Molinard P., Lesschaeve J.: Bitterness and nitrogen fractions of mould ripened cheese of Camembert type: Impact of the association of *Penicillium camemberti* with *Geotrichum candidum*. *Lait*, 1994, **74**, 361-374.
- [9] Molinard P., Vassal L.: Growth of *Penicillium camemberti* and *Geotrichum candidum* in pure and mixed cultures during experimental ripening of soft camembert type cheese. *Lait*, 1995, **75**, **1**, 3-16.
- [10] Nielsen M.S., Frisvad J.C.: Colony interaction and secondary metabolite production of cheese-related fungi in dual culture. *J. Food Prot.*, 1998, **8 (51)**, 1023-1029.
- [11] Okebe B., Seigle-Murandi.: Fungal metabolite active against phytopathogenes. *Sci. Total Env.*, 1994, **155**, 125-130
- [12] Perkowski J.: Mikotoksyny w surowcach piwowskich i w piwie oraz w czasie jego otrzymywania. *Przem. Ferm.*, 2000, **11**, 14-16.
- [13] Piegza M., Stempniewicz R.: Ocena antagonizmu drożdży *Geotrichum candidum* w stosunku do toksynotwórczych grzybów rodzaju *Fusarium*., *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2002, **3 (32) Supl.**, 136-148
- [14] Robinson P.M., Harper D.B., Hamilton J.T.G.: Autoinhibition of germination and growth in *Geotrichum candidum*, *Mycol. Res.*, 1989, **93**, 214-222
- [15] Tariq V.N., Campbell V.M.: Influence of volatile metabolites from *Geotrichum candidum* on other fungi. *Short Communication*., 1990, pp. 891-893
- [16] Vargas I., Sanz I., Moya P.: Antimicrobial and antioxidant compounds in the non-volatile fraction of expressed orange essential oil. *J. Food Prot.*, 1999, **62**, **8**, 929-932

THE EFFECT OF *GEOTRICHUM CANDIDUM*'S METABOLITES ON THE GROWTH OF *FUSARIUM* SP.

S u m m a r y

The subject of our analysis was a micro-culture of 3 fungi species: *Fusarium* sp.: *Fusarium culmorum*, *F. graminearum*, and *F. avenaceum*. The analysis was performed in an automated apparatus 'Bioscreen C'. In the cultures investigated, the effect of *G. candidum* yeast metabolites on the growth of the *Fusarium* fungi was studied and assessed. The yeast metabolites were obtained from a culture of these yeasts with *Fusarium* biomass added to the medium. In order to differentiate protein and non-protein metabolites, two types of supernatants were added: one group of them was not inactivated, and the second one – inactivated over 20 minutes at a temperature of 95°C. It was proved that the *G. candidum* metabolites studied were antagonistically active towards the 2 species: *F. culmorum*, *F. graminearum*, and that they were stimulatingly active towards *F. avenaceum*. The yeast metabolites prolonged the time of fungal spore germination (lag-phase) up to 34 hours comparing to the control culture (with no supernatants added). Additionally, the biomass yield was essentially decreased in the cultures containing metabolites of yeasts. In the presence of metabolites, the stimulated strain (*F. avenaceum* 1) grew faster (to 60%) and more effective (to 25%) than in the control culture. The inhibiting effect of supernatants could be attributed both to the presence of active metabolites in them, and to the enzymes produced by yeasts.

Key words: *Geotrichum candidum*, *Fusarium*, inhibition ☒