



VĚDECKÝ VÝBOR FYTOSANITÁRNÍ A ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

Klasifikace: Draft	<input type="checkbox"/> <i>Pro vnitřní potřebu VVF</i>
Oponovaný draft	<input type="checkbox"/> <i>Pro vnitřní potřebu VVF</i>
Finální dokument	<input type="checkbox"/> <i>Pro oficiální použití</i>
Deklasifikovaný dokument	<input checked="" type="checkbox"/> <i>Pro veřejné použití</i>

Název dokumentu:

Incidence mykotoxinů v cereáliích produkovaných v ČR, vazba na agrotechnická opatření

Poznámka:

VVF-04-02

Zpracovatel: Ing. Zuzana Radová-Sypecká

ve spolupráci s Prof. Ing. Janou Hajšlovou, CSc.

1. ÚVOD

Sledování potenciálně toxických látek vstupujících do potravního řetězce člověka je nedílnou součástí každé moderní lidské společnosti. Kontrola nezávadnosti konzumovaných potravin a krmiv je naprosto nezbytnou součástí ochrany zdraví populace. Ke sledovaným látkám, zejména pokud jde o hygienicko-toxikologickou nezávadnost potravin, patří různé průmyslové kontaminanty, těžké kovy, pesticidy ale i některé přírodní toxiny včetně mykotoxinů.

Rozvoj lidské společnosti provází od pradávna rozmanité využívání mikroorganismů, ale i dalších druhů rozsáhlé skupiny heterotrofních organismů. Už od středověku se kvasinky a mikroskopické vláknité houby uplatňují např. k přípravě chleba, alkoholických nápojů, sýrů i různých fermentovaných orientálních pokrmů. Moderní biotechnologie využívají kvasinky a houby i na přípravu krmiv, enzymů, organických kyselin, ethanolu, vitamínů, antibiotik, steroidů a stimulátorů růstu rostlin apod.

Mykotoxiny, produkty sekundárního metabolismu mikroskopických vláknitých hub (viz. **Tabulka 1**), se v první řadě vyskytují v zemědělských plodinách, především obilovinách (pšenice (viz. **Obrázek 1**), ječmen, žito, oves), rýži, kukuřici, olejnatých semenech (mák, řepka, hořčice, sojové boby, slunečnice) a potažmo potravinářských výrobcích obsahujících tyto potravinářské suroviny. V neposlední řadě u hospodářských zvířat, pro něž jsou obilniny jednou ze základních složek krmiv, např. u drůbeže, prasat a dobytku, potvrdila řada studií vliv zkrmování mykotoxiny kontaminovaného krmiva na jejich zdravotní stav a produkci. UN Food and Agriculture Organisation uvádí, že v roce 1989 bylo více než 25% konzumovaných potravin z celkové světové produkce významně kontaminováno mykotoxiny. Z těchto důvodů se stále více klade důraz na potřebu studia těchto toxinů (jejich výskytů, stanovení podstaty toxicity, rozsahu zbytkových množství toxických látek v potravinách a stanovení jejich toxického potenciálu) s cílem minimalizovat/eliminovat rizika, která pro člověka a zvířata vyplývá z konzumace takto znehodnocených potravin a krmiv. Je nutné zdůraznit, že problematiku mykotoxinů je nutné řešit už na úrovni zemědělských produktů.

Obrázek 1. Pšenice cíleně infikovaná sporama *F. culmorum*



Tabulka 1. Nejvýznamnější mykotoxiny produkované vláknitými houbami rodu *Aspergillus*, *Penicillium* a *Fusarium*

houby rodu ASPERGILLUS	mykotoxin	houby rodu PENICILLIUM	mykotoxin	houby rodu FUSARIUM	mykotoxin
<i>A. carneus</i>	citrinin	<i>P. aurantiogriseum</i>	cyklopiazonová kyselina, penicilová kyselina	<i>F. acuminatum</i>	DAS, MAS, HT-2 toxin, T-2 toxin, moniliformin
<i>A. clavatus</i>	patulin	<i>P. camemberti</i>	cyklopiazonová kyselina	<i>F. anthropilum</i>	moniliformin
<i>A. flavus</i>	aflatoxiny B1, B2, cyklopiazonová kyselina	<i>P. chrysogenum</i>	cyklopiazonová kyselina	<i>F. avenaceum</i>	moniliformin
<i>A. ochraceus</i>	ochratoxiny, penicilová kyselina	<i>P. citreonigrum</i>	citreoviridin	<i>F. chlamydosporium</i>	moniliformin
<i>A. oryzae</i>	cyklopiazonová kyselina	<i>P. citrinum</i>	citrinin	<i>F. crookwellense</i>	deoxynivalenol, nivalenol, zearalenony
<i>A. parasiticus</i>	aflatoxiny B1, B2, G1, G2	<i>P. commune</i>	cyklopiazonová kyselina	<i>F. culmorum</i>	fusarin C, deoxynivalenol, nivalenol, zearalenon
<i>A. terreus</i>	citreoviridin, citrinin, patulin	<i>P. expansum</i>	citrinin, patulin	<i>F. graminearum</i>	deoxynivalenol, DAS, zearalenon
<i>A. tamarii</i>	cyklopiazonová kyselina	<i>P. griseofulvum</i>	cyklopiazonová kyselina, patulin	<i>F. moniliforme</i>	fumonisin, fusarin C, moniliformin
<i>A. versicolor</i>	sterigmatocystin, cyklopiazonová kyselina	<i>P. purpurescens</i>	ochratoxin A	<i>F. oxysporum</i>	moniliformin
		<i>P. roqueforti</i>	patulin	<i>F. poae</i>	fusarin C, DAS, MAS, HT-2 toxin, T-2 toxin, zearalenony
		<i>P. rubrum</i>	rubratoxiny	<i>F. sambucinum</i>	fusarin C, DAS, MAS, HT-2 toxin, T-2 toxin
		<i>P. simplicissimum</i>	penicilová kyselina	<i>F. semitectum</i>	moniliformin, zearalenon
		<i>P. verrucosum</i>	citrinin, ochratoxin A, cyklopiazonová kyselina	<i>F. sporotrichioides</i>	DAS, MAS, HT-2 toxin, T-2 toxin, zearalenony
		<i>P. viridicatum</i>	cyklopiazonová kyselina	<i>F. tricinctum</i>	fusarin C

Pozn.: MAS – monoacetoxyscirpenol, DAS - diacetoxyscirpenol

2 SOUČASNÝ STAV POZNATKŮ PROBLEMATIKY MYKOTOXINŮ

Jak již bylo řečeno, některé z mykotoxinů (produkty sekundárního metabolismu mikroskopických vláknitých hub) řadíme k vysoce rizikovým přirozeným toxickým látkám. Sekundární metabolity hub vznikají jen u určité skupiny druhů či kmenů, k jejich maximální produkci většinou dochází až po fázi růstu mycelia a bývá často spojena s morfogenetickými změnami (sporulace). V současnosti je identifikováno více než 300 různých mykotoxinů, produkovaných přibližně 350 rody mikroskopických vláknitých hub, ale pouze asi 20 mykotoxinů se přirozeně a častěji ve vyšších koncentracích vyskytuje v potravinářských surovinách a krmivech. Zatímco některé mykotoxiny, vyskytující se obvykle ve stopových množstvích, jsou produkovány pouze omezeným počtem hub, jiné jsou produkovány poměrně velkým počtem mikromycet několika rodů. Vedle aflatoxinů, jejichž nejvýznamnějšími producenty *Aspergillus flavus* a *A. parasiticus* a kterým je věnována pozornost již od 50. let tohoto století, jsou intenzivně studovány i další skupiny mykotoxinů, např. ochratoxiny, trichotheceny, fumonisiny, patulin a alternaria.

Mykotoxiny jsou obvykle děleny do skupin je podle hlavních producentů (viz. Tab. 1) nebo do třech základních kategorií podle meziproduktů primárního metabolismu mikroskopických vláknitých hub, které jsou jejich společnými prekursory :

1) mykotoxiny odvozené od struktury polyketidů (na jejich tvorbě se podílí acetylkoenzym A)

- patulin (odvozen od tetraketidu)
- citrinin (odvozen od pentaketidů)
- ochratoxin A (odvozen od pentaketidů)
- zearalenony (odvozeny z nonaketidů)
- aflatoxiny (odvozeny z dekaketidů)

2) terpenové mykotoxiny (jejich tvorba vychází z mevalonové kyseliny)

- seskviterpenové trichotheceny
- moniliformin, fusarin C

3) mykotoxiny charakteru cyklických polypeptidů a jejich derivátů (výchozí látkou jsou aminokyseliny)

- gliotoxin
- immunotoxin
- námelové alkaloidy
- tremorgenní mykotoxiny (rokvefortin, paxillin)
- nonadridy (rubratoxiny)

Faktory podmiňující rozsah případné kontaminace zemědělských plodin mykotoxiny za polních podmínek jsou shrnuty v následujícím výčtu:

- vlastní rezistence kultivaru vůči napadení vláknitých hub
- míra fyziologického stresu, kterému jsou rostliny vystaveny rostliny (nedostatek minerálií, malé či nadměrné množství vlhkosti, slanost půdy, znečištění ovzduší, napadení hmyzem atd.)
- virulence patogenní vláknité houby
- typ produkovaného mykotoxinu
- schopnost rostliny resp. rostlinných enzymových systémů degradovat mykotoxiny
- interval mezi sklizní a koncentračním cyklem produkce mykotoxinů

Významnou roli sehrávají samozřejmě také klimatické poměry, ve prospěch produkce mykotoxinů působí zejména srážky (vlhkost) v pozdějších fázích zrání a v předsklizňovém období. Problémy s výskytem mykotoxinů ve sklizených plodinách nastávají zejména tehdy, uplatní-li se současně více faktorů příznivých pro růst vláknitých hub a tvorbu jejich toxických kometabolitů. Vláknitými houbami, které se prakticky výhradně uplatňují v předsklizňovém období jsou *Fusaria*, ale také producent ergot alkaloidů *Claviceps*. Kulturní rostliny mohou být v polních podmínkách infikovány příležitostně i toxinogenními houbami rodu *Aspergillus*, *Alternaria* případně *Chaetomium* či *Sordaria*.

I v období následujícím po sklizni t.j. během transportu, zpracování či skladování může dojít ke kontaminaci zemědělských produktů mykotoxiny, nejčastěji jde o kometabolity hub rodů *Aspergillus* a *Penicillium*. Rozhodující roli v této souvislosti hrají faktory shrnuté v **Tabulce 2**. Z hlediska uskladnění zemědělských plodin je kritickým faktorem limitujícím růst vláknitých hub obsah dostupné vlhkosti (v daném kontextu se vyjadřuje jako vodní aktivita). Vnější obalové vrstvy zrn jsou pro houby přirozenou bariérou. Pokud dojde během sklizení, transportu nebo v důsledku technologických úprav k porušení těchto vrstev, mohou spory lehce získat pro svůj růst potřebné živiny, které jsou obsaženy ve vnitřních částech zrn. Obecně menší cereální zrna jako je pšenice, ječmen či rýže jsou méně často napadány vláknitými houbami než je tomu např. u kukuřice.

Tabulka 2. Faktory ovlivňující rozvoj vláknitých hub v posklizňovém období

Biologické faktory	Chemické faktory	Podmínky v prostředí
vlastnosti daného kmene	typ substratu	teplota
kompetitivní mikroflóra	přítomnost fungicidních látek	vodní aktivita (a_w)
velikost inokula		složení atmosféry přístup světla

Vedle konvenčních technik (moření osiv, aplikace fungicidních prostředků atd.) vedoucích k minimalizaci kontaminace zemědělských plodin mykotoxiny v předsklizňovém období (zejména výskyt toxinů produkovaných fusarii - trichothecenů a zearalenonu, námelových alkaloidů, tremorgenů a, jak se ukázalo nedávno, i aflatoxinů) se dnes stále více uplatňují netradiční přístupy ať jde již o využití výstupů genetického inženýrství nebo o aplikaci tzv. biokompetitivních činitelů. Historicky nejstarší úspěšnou snahou o potravního řetězce člověka je omezení výskytu ergot alkaloidů na minimum díky účinnému uplatňování preventivních opatření jako šlechtění odrůd obilí odolných proti napadení hub rodu *Claviceps*, rotace plodin, aplikace fungicidů i screening výskytu námelu.

Úspěšná ochrana plodiny před napadením toxinogenními houbami začíná již okamžikem sklizně. Plodiny je třeba sklízet v plné zralosti, kdy je obsah vlhkosti nejnižší, a případně ještě, jak již bylo zmíněno, před vlastním skladováním dosušit. Nutné je též důsledně eliminovat možnost rekondenzace vody. Pokud jde o zpracovatelský průmysl, zde lze jako preventivní opatření chápat veškeré druhy fyzikálních metod prodloužení údržnosti: pasterizace, sterilace, chlazení vakuové balení případně ozařování.

V praxi jsou příležitostně využívány i metody "chemické" spočívající v použití různých antifungálních sloučenin jako je sorbová či propionová kyselina. Dávkování těchto fungistatických látek však musí být dostatečné, protože nižší než optimální dávky mohou naopak růst hub stimulovat. Zároveň však obvykle v těchto případech může docházet k významnému poklesu nutriční hodnoty daného substrátu.

V následujícím textu budou stručně charakterizovány nejvýznamnější skupiny mykotoxinů, které se vyskytují v zemědělských plodinách pěstovaných v České republice (mimo aflatoxinů a Paulinu) a byla jim v rámci projektu věnována pozornost.

2.1. Fusáriové mykotoxiny

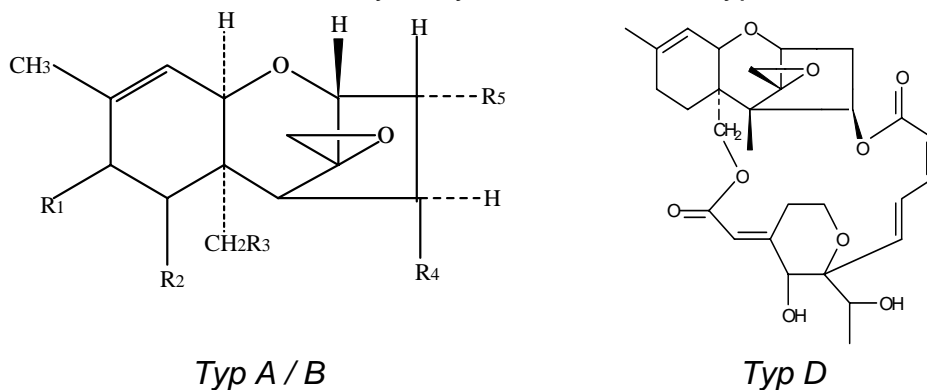
2.1.1. Trichothecenové mykotoxiny produkované rodem *Fusarium*

Produkce trichothecenů je v současné době prokázána u 24 druhů hub rodu *Fusarium* (*F. crookwellense*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. moniliforme*, *F. solani*, *F. oxysporum*, atd.). Kromě hub rodu *Fusarium* produkují trichotheceny také rody *Trichoderma*, *Trichothecium* a *Stachybotrys*.

Základní strukturou jsou řazeny do skupiny tricyklických sesquiterpenů s dvojnou vazbou mezi C-9 a C-10 a epoxidovou vazbou mezi C-12 a C-13. Podle funkčních skupin jsou děleny na čtyři typy, nemakrocyclické typu A, B, C a makrocyclické typu D, viz. **Obrázek 2**. Trichotheceny jsou bezbarvé, opticky aktivní, zpravidla krystalické pevné látky. Jsou tepelně stabilní do 120 °C, rozpustné v mírně polárních rozpouštědlech.

Trichothecenové mykotoxiny jsou celosvětově rozšířeny. *Fusaria*, polní mikroskopické vláknité houby, napadají především obiloviny (pšenice, ječmen) a kukuřici nebo rýži. Jejich hladiny se pohybují od desítek do tisíců µg/kg. Nejčastěji se vyskytujícím trichothecenem je deoxynivalenol (DON). V současnosti je také nejsledovanějším trichothecenem jako marker přítomnosti ostatních trichothecenů a potenciálního zdravotního rizika, a to i přesto, že z hlediska toxicity nepatří mezi nejnebezpečnější (je 10× méně toxický než T-2 toxin, ale už i v malých koncentracích může způsobovat zažívací problémy u hospodářských zvířat).

Toxicita trichothecenů je ovlivněna polohou a typem funkčních skupin. K nejtoxičtějším trichothecenovým mykotoxinům řadíme T-2 toxin, ale ve většině případů mykotoxikóza se jedná o komplexní působení několika trichothecenových mykotoxinů. Jejich přítomnost je spojována s výskytem různých onemocnění nejen u hospodářských zvířat ale i u člověka (ATA – Alimentary Toxic Aleukia, Red Mold Disease, kloubní onemocnění u dětí Kashin Beck Disease nebo rakovina jícnu). Mezi základní symptomy mykotoxikózy patří odmítání potravy, zvracení, krvácení zažívacího traktu, horečka, destrukce kostní dřeně, deformace plodů atd.

Obrázek 2. Chemická struktura vybraných trichothecenů typu A a B

Typ	Název mykotoxinu	Zkratka	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
A	HT-2 toxin	HT-2 tox.	-O-ival	-H	-O-Ac	-OH	-OH
	T-2 toxin	T-2 tox.	-O-ival	-H	-O-Ac	-O-Ac	-OH
	T-2 tetraol	T-2 tr.	-OH	-H	-OH	-OH	-OH
	Diacetoxyscirpenol	DAS	-H	-H	-O-Ac	-O-Ac	-OH
B	Deoxynivalenol	DON	=O	-OH	-OH	-H	-OH
	3-acetyl-deoxynivalenol	3-ADON	=O	-OH	-OH	-H	-O-Ac
	15-acetyl-deoxynivalenol	15-ADON	=O	-OH	-O-Ac	-H	-OH
	Nivalenol	NIV	=O	-OH	-OH	-OH	-OH
	Fusarenon-X	FUS-X	=O	-OH	-OH	-O-Ac	-OH

Celosvětově nejsou harmonizovány limity pro žádný fusáriový mykotoxin, ale pouze několik zemí má stanoveny hygienické limity nebo doporučené přípustné koncentrace pouze u některých mykotoxinů, viz. **Tabulka 3**. Česká republika má stanoven hygienický limit zatím pouze pro deoxynivalenol. Pro obilí, rýži a kukuřici je maximální přípustná koncentrace 2 mg/kg, pro mouku 1 mg/kg a pro speciální produkty 0,5 mg/kg.

Tabulka 3. Maximální tolerované hladiny trichothecenových mykotoxinů

Země	Komodita	Mykotoxin	Hladina (μg/kg)	Pozn.
Rakousko	pšenice, žito	DON	500	-
Kanada	nečištěná měkká pšenice	DON	2000	-
Maďarsko	mouka	T-2 toxin	300	situace r.1996
		HT-2 toxin	300	
		DAS	300	
		NIV	300	
		DON	1000	
	otruby určené ke konzumaci obiloviny	DON	1200	
		DON	2000	
Nizozemí	obiloviny, luštěniny	všechny	0	-
Rumunsko	všechny potraviny	DON	5	situace r. 1987
Rusko	obiloviny	T-2 toxin	100	-
		DON	1000	
USA	pšenice na mletí	DON	2000	-
	finální pšeničné výrobky	DON	1000	

2.1.2. *Netrichothecenové mykotoxiny produkované rodem Fusarium*

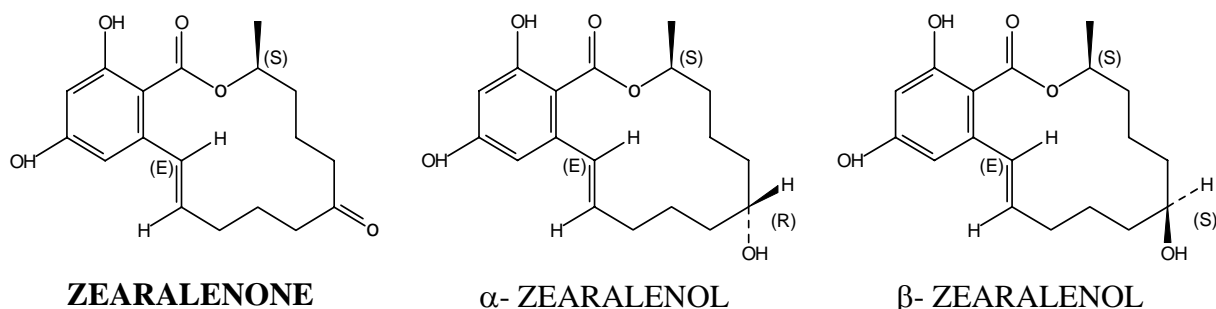
2.1.2.1. *Zearalenon a jeho metabolity α - a β -zearalenol*

Nejdůležitějšími producenty zearalenonu jsou *Fusarium graminearum* a *F. semitectum*. Menší množství produkují *F. culmorum*, *F. nivale*, *F. cerealis*, *F. oxysporum*.

Zearalenon je bílá krystalická látka, tepelně stabilní do 180 °C, rozpustná v mírně polárních rozpouštědlech. Chemicky je to μ -lakton 6-(10-hydroxy-6-oxo-trans-1-undecyl)- β -resorcyklické kyseliny, viz. **Obrázek 3**. Při UV záření vykazuje v oblasti větších vlnových délek intenzivní fluorescenci (360 nm žlutá, 260 nm zelená).

I když zearalenon nemá steroidní strukturu, bylo prokázáno, že se váže na receptory pro 17- β -estradiol a hypotalamické estrogenní receptory a tudíž ovlivňuje hormonální regulaci organismu. Řadíme jej mezi fytoestrogeny a je specifický tím, že jeden jeho derivát, zearanol (tj. α -zearalanol), je komerčně užíván jako růstový hormon u skotu. Především byl sledován jeho vliv na hospodářská zvířata (nejcitlivější jsou prasata). O vlivu na lidský organismus je dostupné velmi malé množství informací, nicméně je zearalenon označován jako potenciální karcinogen (dokázáno u myši).

Obrázek 3. Chemická struktura zearalenonu a jeho metabolitů



Hladiny zearalenonu (ZEA) v cereáliích se pohybují v desítkách až stovkách $\mu\text{g}/\text{kg}$ a často bývá nalézán v přítomnosti trichothecenů, především DON. Jeho výskyt, tak jako i výskyt jiných mykotoxinů, ovlivňují klimatické podmínky spolu s přítomností dalších patogenů a použití fungicidů při ošetření úrody.

Tato skupina fusariových mykotoxinů není zařazena mezi regulované mykotoxiny, pro jejich estrogenní a potenciálně karcinogenní účinky však mají některé země stanoveny regulační limity pro obsah ZEA v potravinách, které jsou uvedeny v **Tabulce 4**. V České republice nebyl zatím hygienický limit zaveden.

Tabulka 4. Maximální tolerované hladiny fusariových mykotoxinů

Země	Komodita	Mykotoxin	Hladina ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Pozn.
Rakousko	pšenice, žito	ZEA	60	-
Brazílie	kukuřice	ZEA	200	situace r. 1987
Francie	obilí, rostlinné oleje	ZEA	200	-
Maďarsko	mouka	ZEA	100	situace r. 1996
Nizozemí	obiloviny, luštěniny	všechny	0	-
Rumunsko	všechny potraviny	ZEA	30	situace r. 1987
Rusko	obiloviny	ZEA	1000	-
	luštěniny, proteinové izoláty, rostlinné oleje	ZEA	1000	

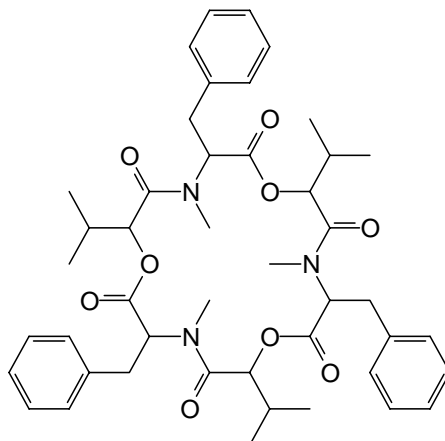
2.1.2.2. *Moniliformin, beauvericin a fusarová kyselina*

O vlastnostech a toxicitě tří sledovaných fusariových mykotoxinů netrichotheceového typu bylo zatím publikováno pouze omezené množství informací. Dosud získané poznatky jsou shrnuty v následujících odstavcích.

- **Beauvericin**

Beauvericin, používá se zkratka **BEA**, (**Obr. 4**) je cyklický hexadepsipeptid skládající se ze tří D- α -hydroxy-isovalerylových a tří N-methyl-L-fenylalanylových jednotek pravidelně se střídajících, s celkovou molekulovou hmotností 784 a sumárním vzorcem $\text{C}_{45}\text{H}_{57}\text{N}_3\text{O}_9$.

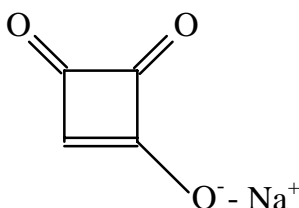
Beauvericin, známý od konce 60. let jako toxický produkt houby *Beauveria bassiana*, byl jako přirozený kontaminant poprvé nalezen v kukuřici začátkem 90. let, jako sekundární metabolit plísně rodu *Fusarium*. Později bylo prokázáno, že tento toxin produkují druhy *F. subglutinans*, *F. moniliforme*, *F. proliferatum*, *F. semitectum*, *F. poae*, *F. globosum*, napadající hlavně obilí, kukuřici a rýži. Toxicita BEA spočívá ve zvyšování propustnosti buněčné membrány pro ionty alkalických kovů, které s jejími složkami mohou tvořit nežádoucí komplexy. Z dalších biologických efektů lze uvést inhibici cholesterol acyltransferasy a popsána byla jeho cytotoxicita pro hmyz a savce.

Obrázek 4. Chemická struktura beauvericinu

- **Moniliformin**

Moniliformin, používá se zkratka **MON**, byl identifikován jako sodná a draselná sůl 3-hydroxy-3-cyklobuten-1,2-dionu (**Obr. 5**). Molekulová hmotnost volné kyseliny je 98, sumární vzorec $C_4H_2O_3$.

Moniliformin byl poprvé izolován a strukturně charakterizován v roce 1972 jako sekundární metabolit houby *Fusarium moniliforme*, odtud také pochází jeho název. Byl nalezen na různých komoditách, kukuřici, pšenici, rýži, ovsu, žitě. Produkují ho například houby *F. moniliforme*, *F. proliferatum*, *F. subglutinans*, *F. avenaceum*, *F. acuminatum*, *F. concolor*, *F. semitectum*. Moniliformin je velmi dobře rozpustný ve vodě, krystaly získané z vodného methanolu se rozkládají při 350 °C. Sodná a draselná sůl netají při teplotách pod 320 °C. Záhřevem kontaminované kukuřice (1 mg K^+ soli MON / kg materiálu) 30 minut na teplotu 100 °C se rozložilo 45 % moniliforminu. MON vykazuje vysokou akutní toxicitu pro laboratorní zvířata, např. krysy, kuřata, kachny. LD_{50} pro jednodenní kohoutky je 4,0 mg MON podané orálně /kg tělesné hmotnosti (160 μ g/40 g th), při dávce 40 mg/kg nastala smrt do 45 minut. LD_{50} pro myši samce je 20,9 mg MON/kg th. U pokusných zvířat byla pozorována progresivní svalová slabost, dýchací obtíže, cyanosa, následovalo koma a smrt. MON je také cytotoxický pro savčí buňky, a je řazen mezi potenciální kardiotoxiny. Mechanismus toxického účinku spočívá v inhibici enzymů odpovědných za oxidativní dekarboxylaci pyruvátu na acetyl CoA a α -ketoglutarátu na sukcinyl CoA.

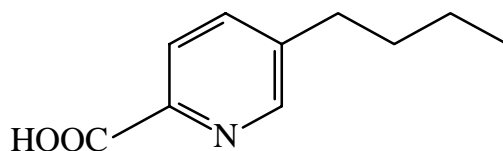
Obrázek 5. Chemická struktura sodné soli moniliforminu

- **Fusarová kyselina**

Jedná se o 5-butylpikolinovou kyselinu (**Obr. 6**), se sumárním vzorcem $C_{10}H_{13}NO_2$ a molekulovou hmotností 179,2. Používá se zkratka **FA**.

Fusarová kyselina byla vyizolována z několika zemědělských plodin, například z kukuřice, pšenice, ječmene. Jejími producenty jsou například houby *F. subglutinans*, *F. moniliforme*, *F. proliferatum*, *F. sambucinus*, *F. heterosporum*, *F. oxysporum*, *F. solani*. Ve srovnání s ostatními fusariovými mykotoxiny vykazuje FA nízkou akutní toxicitu (LD_{50} pro myš je při intravenosním podání 100 mg/kg th). Je potenciálním inhibitorem dopamin- β -hydroxylasy.

Obrázek 6. Chemická struktura fusarové kyseliny



2.2. Alternariové mykotoxiny

Houby rodu *Alternarium* zahrnují saprofytní i parazitující druhy běžně se vyskytující na tlejícím dřevě, v kompostech, v půdě, na rostlinách a potravinách. Jsou to, vzhledem k jejich všudypřítomnosti, jedny z nejdůležitějších plísňových alergenů.

Jako důležité rostlinné patogeny napadají a způsobují zánik mnoha zemědělských plodin (nejčastěji ječmen, pšenice, oves a rajčata) jak na poli, tak i po sklizni. Alternaria způsobují například černé skvrny na hruškách, hnědé skvrny na tabáku, časnou sněť brambor či tzv. bledničku u rajčat a citrusů. Jestliže v předsklizňovém období nastane suché počasí jsou zrna často zbarvena houbovou nákazou. Jako posklizňová kontaminace ovoce, zeleniny a obilí se mohou vyskytnout díky přenesení spór z pole nebo může dojít ke kontaminaci těchto surovin při transportu, zpracování či skladování. Optimální teplota pro růst *Alternarií* je cca 25°C, jsou však schopny růst i při nižších teplotách, což umožňuje přežití při chladírenských podmínkách, např. v lednici, kde jejich spory mohou infikovat další potraviny. Přírodní výskyt či uměle indukovaná produkce alternariových mykotoxinů byly zkoumány a sledovány u různých druhů zemědělských plodin, např. slunečnicových jader, rajčat, okurek, paprik, mandarinek, pomerančů, citronů, melounů, jablek, hroznového vína, borůvek, broskví, třešní, pšenice a ječmene. Bylo potvrzeno, že v průběhu technologického zpracování kontaminovaných surovin ne vždy

dochází k degradaci a snížení množství těchto látek a tak se mohou dostat i do finálních výrobků (např. kečupu, rajčatového protlaku, atd.).

Je známo několik toxinogenních druhů hub rodu *Alternarium*, z nichž nejvýznamnější a nejvíce zkoumaný je druh *A. alternata* (= *A. tenuis*). Mezi další patří např. *A. dauci*, *A. mali*, *A. radicina*, *A. raphani*, *A. tenuissima*. Z těchto toxinogenních druhů bylo dosud vyizolováno přibližně 30 potenciálně toxických sloučenin. Mezi nejdůležitější patří alternariol (AOH), alternariol monomethylether (AME), altenuen (ALT či AE), altertoxin I. (ATX I.) a tenuazonová kyselina (TA či TeA).

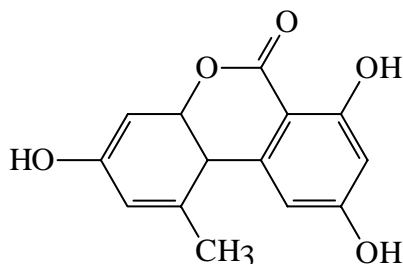
Podle chemické struktury se dají rozdělit do tří skupin :

- dibenzo- α -pyronové deriváty - AOH, AME, AE,
- perylenové deriváty - ATX I.,
- derivát tetramové kyseliny - TA.

Většina z alternariových mykotoxinů vykazuje značnou cytotoxickou aktivitu. Pro savce je za nejúčinnější toxin, produkováný rodem *Alternaria* spp., považována tenuazonová kyselina, mutagenní účinek byl pozorován u alternariol monomethyl etheru a altertoxinu I. Chronická toxicita alternariových mykotoxinů zatím není dostatečně prozkoumána.

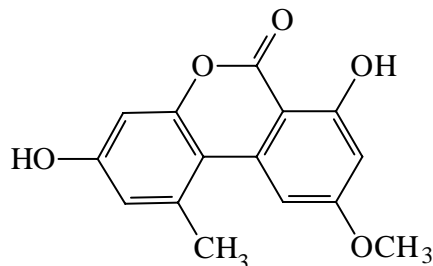
- **Alternariol**

Alternariol , v odborné literatuře se používá zkratka **AOH**, patří do skupiny dibenzo- α -pyronových derivátů, viz. **Obr. 7**, systematický název 3,7,9-trihydroxy-1-methyl-6H-dibenzopyran-6-on, souhrnný vzorec $C_{14}H_{10}O_5$, molekulová hmotnost 258. Krystaly tvoří bezbarvé jehličky s bodem tání v rozmezí 340-350 °C. Rozpouští se v acetonu, ethanolu, etheru, methanolu, tetrahydrofuranu, dichlormethanu, ledovém vodném roztoku hydroxidu sodného, ledovém vodném roztoku uhličitanu sodného, koncentrované kyselině sírové. Je nerozpustný v hexanu, benzenu, vodě a vodném roztoku hydrogenuhličitanu sodného. V nasycených ledových roztocích uhličitanu sodného a hydroxidu sodného tvoří žluto-zelený roztok. V ethanolu, methanolu a acetonu je více rozpustný než alternariol monomethylmethylether.

Obrázek 7. Chemická struktura alternariolu

- **Alternariol monomethyl ether**

Alternariol monomethyl ether, v odborné literatuře se používá zkratka **AME**, patří do skupiny dibenzo- α -pyronových derivátů, (**Obr. 8**), systematický název 3,7-dihydroxy-9-methoxy-1-methyl-6*H*-dibenzopyran-6-on, souhrnný vzorec $C_{15}H_{12}O_5$, molekulová hmotnost 272. Krystaly tvoří bezbarvé jehličky s bodem tání v rozmezí 267-278 °C. Rozpouští se v acetonu, acetonitrilu, ethanolu, methanolu, dichlormethanu, tetrahydrofuranu, horkém dioxanu, horkém vodném roztoku uhličitanu sodného, ledovém hydroxidu sodném, koncentrované kyselině sírové, také v ethyletheru, chloroformu a ethylacetátu. Je nerozpustný ve vodném roztoku hydrogenuhličitanu sodného, ledovém nasyceném roztoku uhličitanu sodného a vodě. AME je částečně rozpustný v benzenu a hexanu. V ledovém zředěném roztoku hydroxidu sodného tvoří žluto-zelený roztok.

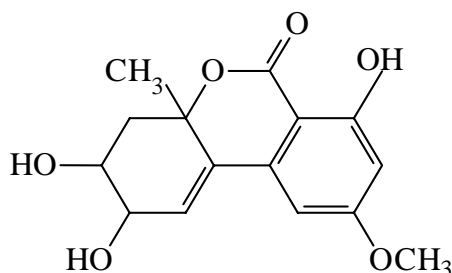
Obrázek 8. Chemická struktura alternariol monomethyl etheru

- **Altenuen**

Altenuen, používá se zkratka **AE či ALT**, patří do skupiny dibenzo- α -pyronových derivátů, (**Obr. 9**), systematický název 2,3,4,5-tetrahydro-2,3,7-trihydroxy-9-methoxy-5-methyl-6*H*-dibenzopyran-6-on, souhrnný vzorec $C_{15}H_{16}O_6$, molekulová hmotnost 292. Krystaly tvoří bezbarvé jehličky s bodem tání v rozmezí 190-191°C. Rozpouští se v acetonu, ethanolu, methanolu, dichlormethanu, pyridinu, tetrahydrofuranu a zředěném roztoku hydroxidu sodného. Je nerozpustný v hexanu, benzenu, zředěné kyselině

chlorovodíkové, nasyceném roztoku hydrogenuhličitanu sodného a vodě. Je málo rozpustný v etheru a chloroformu.

Obrázek 9. Chemická struktura altenuenu

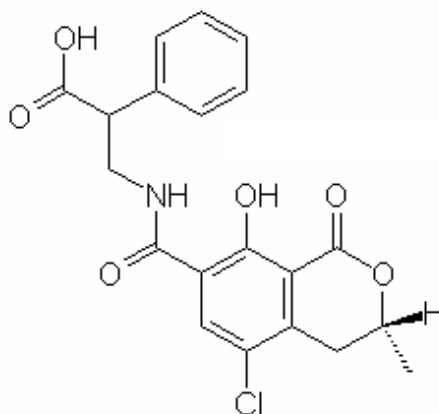


2.3. Ochratoxin A

K objevu ochratoxinů došlo v Jihoafrické republice v rámci laboratorního screeningu toxinogenních hub izolovaných ze zemědělských plodin. Jako nejvýznamnější producent v této oblasti byl identifikován *A. ochraceus*. V chladnějších klimatických pásmech Evropy (zejména ve Skandinávii) jsou nejvýznamnějším producenta nejtoxičtějšího mykotoxinu této skupiny - ochratoxinu A (zkratka OTA) - jsou považována penicillia, především *P. viridicatum*. Ochratoxin A je nejčastěji nalézán v cereáliích - ječmeni, pšenici, ovsu, dále v kukuřici, rýži a také zelených kávových bobech (což vzbudilo v posledních letech mimořádnou pozornost odborníků). Vedle rostlinných produktů lze nalézt diskutovaný mykotoxin též v orgánech hospodářských zvířat, zejména ledvinách vepřů (koncentrace zde často dosahují až 10^2 $\mu\text{g}/\text{kg}$), přechodový faktor se v tomto případě pohybuje mezi 20 - 60, u drůbeže je jeho hodnota několikanásobně vyšší - 100 až 330, pro játra se pohybuje v rozmezí 400 až 660, stopové koncentrace ochratoxinu A byly prokázány i v mase (svalovině). Rozvoj příslušných toxinogenních hub je příčinou příležitostně zjišťovaných nálezů ochratoxinu A v sýrech, popsána byla produkce tohoto mykotoxinu i v uzenářských výrobcích k jejichž finalizaci se používají kulturní vláknité houby (např. uherský salám).

Z toxikologického hlediska nejvýznamnější reprezentant diskutovaných mykotoxinů je ochratoxin A, viz. **Obr. 10**, ve své molekule obsahuje fenylalanin se substituovaným (3R)-3,4-dihydro methylizokumarinem. Při hodnocení vztahu struktury k toxickým efektům dané sloučeniny, jsou tyto přičítány právě přítomnosti atomu chlóru substituujícímu aromatický kruh v této části molekuly.

Jak ilustruje **Tabulka 5**, tepelné procesy využívané při zpracování kontaminovaných surovin vedou vesměs k výraznému poklesu koncentrací ochratoxinu A.

Obrázek 10. Chemická struktura ochratoxinu A**Tabulka 5.** Změny obsahu ochratoxinu A při zpracování kontaminovaných zemědělských plodin

produkt	podmínky zpracování	Pokles výchozího obsahu (%)
káva	pražení	80 - 90
kávové boby (cíleně kontaminované)	pražení, 200 °C, 5 min.	100
pivovarský rmut	vaření	72 - 73
cereální výrobky	autoklávování, 120°C, 3h	70

Nejzávažnějšími biologickými efekty zaznamenanými u zvířat exponovaných ochratoxinu A je nefrotoxicita, dále byla prokázána jeho hepatotoxicita, genotoxicita, imunotoxicita a karcinogenita. Při zkrmování kontaminovaného krmiva hospodářská zvířata špatně prospívají, jejich pomalý růst mimo jiné souvisí i se sníženým využíváním živin. U člověka je dietární expozice ochratoxinu A spojována s tzv. balkánskou endemickou nefropatií (BEN) a s nádory ledvin. Při nedávno prováděném průzkumu byl zjištěn častý výskyt ochratoxinu A v krevní plasmě obyvatel různých částí Evropy, což ještě více podtrhlo potřebu systematického sledování tohoto kontaminantu v potravním řetězci člověka (po vstupu do lidského organismu je ochratoxin A značně perzistentní).

Pro rezidua ochratoxinu A existují v řadě zemí hygienické limity: v EU pro kávové boby a cereálie 20 µg/kg; pro jedlé orgány hospodářských zvířat (ledviny, játra) 25 µg/kg. V ČR jsou se tyto hodnoty pro různé skupiny potravin pohybují v rozmezí 5 - 10 µg/kg.

2. 4. Fumonisin

Tato skupina mykotoxinů byla objevena až na konci 80. let v Jihoafrické republice, v současné době je velmi intenzivně celosvětově studována. Za hlavní producenty fumonisinů jsou označovány *F. moniliformi* a *F. proliferatum*, dosud bylo identifikováno

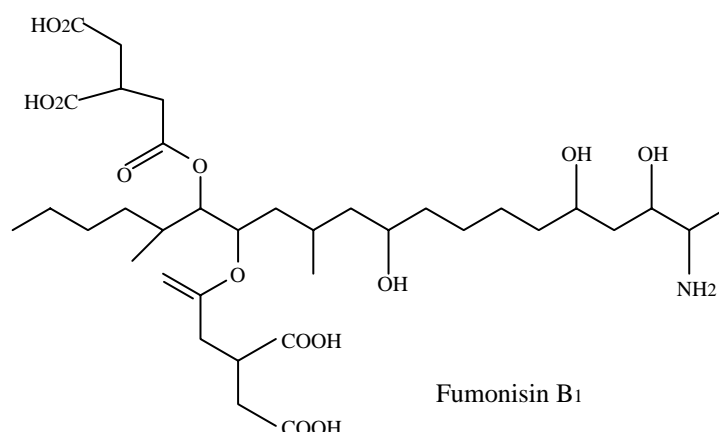
celkem 20 producentů z rodu *Fusarium*. Fumonisinů se převážně nachází v kukuřici (zde jejich obsahy mohou dosáhnout i desítek mg/kg) i v příslušných produktech používaných jako krmivo (siláž), často jsou prokázány i v kukuřičných výrobcích jako jsou lupínky apod. Nálezy fumonisinů byly hlášeny též v rýži, prosu apod.

V současné době je známo 6 fumonisinů (B_1 , B_2 , B_3 , B_4 a A_1 , A_2), z nichž nejvýznamnější je B_1 znázorněný na **Obrázku 11**. Vesměs jde o velmi polární diestery propan-1,2,3-trikarboxylové kyseliny a pentahydroxyisokosanu s vázanou aminoskupinou; zajímavá je jejich podobnost se strukturou sfingosinu.

Fumonisinů jsou relativně značně termostabilní, tak např. při sušení kontaminované kukuřice při 100°C dosáhla hodnota poločasu jejich rozkladu 175 min. Účinně je lze z povrchu kukuřice odstranit omýváním, zejména v alkalických roztocích, při vyšším rozsahu kontaminace zůstávají rezidua ve vnitřních částech zrn.

Fumonisinů u hospodářských zvířat vyvolávají řadu onemocnění: u koní jde o mykotoxikozu zvanou equine leukoencephalomalasia (ELEM), u prasat je popsána tzv. porcine pulmonary endema (PPE), v obou případech intoxikace vyššími dávkami může vést k úmrtím těchto organismů. V souvislosti s možným výskytem fumonisinů v lidské dietě se často hovoří o jejich karcinogenitě (tato byla prokázána v experimentech se zvířaty). Některé studie z Jižní Afriky a Číny dokládají zvýšenou incidenci rakoviny jícnu u skupin populace s vysokou spotřebou kontaminované kukuřice. Jednoznačné jsou důkazy jejich hepatotoxicity a nefrotoxicity. Hygienické limity pro tyto látky dosud stanoveny nebyly stanoveny neboť toxikologické hodnocení těchto mykotoxinů dosud nebylo ukončeno.

Obrázek 11. Chemická struktura fumonisinu B_1



3 EXPERIMENTÁLNÍ DATA

S problémy vyplývajícími z konzumace plesnivých potravin se člověk setkával už od nepaměti, zejména pak od doby, kdy opustil kočovný způsob života, začal pěstovat zemědělské plodiny a jejich přebytky skladoval. Nejstaršími popsány mykotoxikosami jsou ergotismus, alimentární toxická aleukie a onemocnění ze žluté rýže. Systematické studium mykotoxinů bylo iniciováno až v 60. letech minulého století díky množícím se signálům o nebezpečnosti používání plesnivých potravin a krmiv k výživě. Zásadním impulsem se stala událost odehrávající se v roce 1960 ve Velké Británii, kde došlo k sérii hromadných úhynů asi tisíc krůt a další drůbeže a šetření prokázala souvislost s podáváním plesnivého krmiva (podzemnicový šrot), přičemž jako původce byl označen do té doby neznámý toxin, aflatoxin, nazvaný podle latinského názvu původce mikroskopické vláknité houby *Aspergillus flavus*.

Optimální cestou vedoucí ke snížení výskytu mykotoxinů v lidské potravě a krmivech tvoří tři základní preventivní opatření:

- Omezení infekce zemědělských plodin toxinogenními vláknitými houbami v období růstu plodin
- Rychlé a správné vysušení sklizených zemědělských plodin a jejich správné skladování
- Použití účinných fungicidních přípravků a obou výše uvedených stupňů zemědělské prvovýroby

Mezi hlavní faktory, které ovlivňují rozsah případné kontaminace zemědělských plodin mykotoxiny za polních podmínek, patří vlastní rezistence kultivarů vůči napadení mikroskopickými vláknitými houbami, míra fyziologického stresu, kterému jsou vystaveny rostliny (nedostatek minerálií, malé či nadměrné množství vlhkosti, slanost půdy, znečištění ovzduší, napadení hmyzem, atd.), virulence patogenní houby, typ produkovaného mykotoxinu, schopnost rostliny degradovat mykotoxiny, dobrá zemědělská praxe (typ orby, hnojení, předplodiny) a interval mezi sklizní a obdobím produkce mykotoxinů.

V následujících podkapitolách jsme se zaměřili jak na zodpovězení otázek týkajících přehledného zmapování situace přirozeného výskytu mykotoxinů produkovaných rodem *Fusarium* a *Alternarium* v pěstebních lokalitách České republiky a dále také na posouzení míry vlivu půdního ošetření, volby předplodin a fungicidního ošetření na produkci mykotoxinů.

3.1. SLEDOVÁNÍ PŘIROZENÉHO VÝSKYTU FUSÁRIOVÝCH MYKOTOXINŮ V CEREÁLIÍCH V RŮZNÝCH PĚSTEBNÍCH LOKALITÁCH ČESKÉ REPUBLIKY

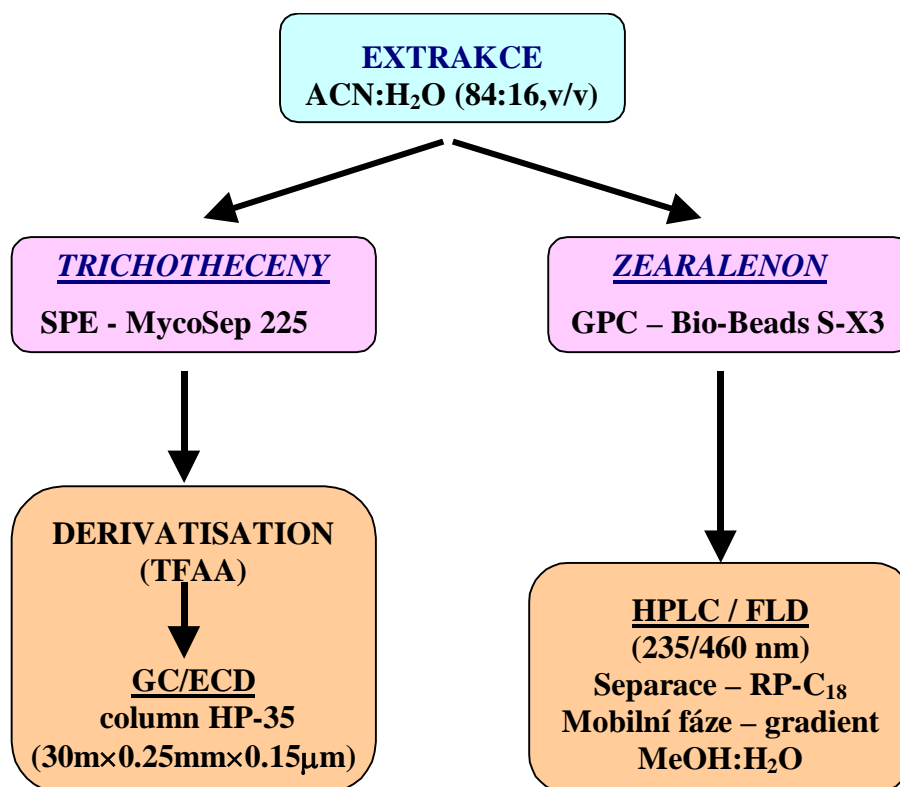
Vzorky, u kterých bylo v průběhu let 1999 – 2001 prováděno sledování přirozeného výskytu fusáriových mykotoxinů, byly odebírány ve spolupráci s VURV Ruzyně a ZVU Kroměříž v různých pěstebních lokalitách České republiky tak, aby bylo zastoupeno co největší procento odrůd pěstovaných v České republice a zároveň byly lokality voleny tak, aby reprezentovaly hlavní oblasti ve kterých je daná plodina na našem území pěstována. Schéma akreditovaných analytických metod použitých pro stanovní obsahu sledovaných fusáriových mykotoxinů ve vzorcích je uvedeno na **Obrázku 12**. Externí kontrola jakosti (správnost generovaných dat) je zajištěna naší účastí na mezinárodním mezilaboratorním testu programu FAPAS (Food Analysis Performance Assessment Scheme) organizovaný britskou Central Science Laboratory (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, UK).

Byly odebrány vzorky různých odrůd pšenice ozimé, ječmene jarního a žita, viz. **Tabulka 6**. Výsledky analýz, tj. koncentrace sledovaných analytů v jednotlivých letech, jsou uvedeny v **Tabulkách 7 - 9** a graficky znázorněny na **Obrázcích 13 – 15**. Je zřejmé, že v průběhu sledovaných let hladiny trichothečenů a zearalenonu u většiny analyzovaných vzorků byly ve vztahu k hygienickému limitu relativně nízké. Mezi nejčastěji zastoupené kvantifikované mykotoxiny patřil DON a NIV (jejich produkce je typická pro plísně rodu *Fusarium*, které se vykytují v našich klimatických podmínkách, jde zvl. o *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae*).

Tabulka 6. Přehled odebraných vzorků vyšetřených na obsah fusáriových mykotoxinů

Rok	Vzorky	Odrůdy	Lokality
1999	49 pšenice	22	15
2000	47 pšenice	21	40
2001	55 pšenice	14	43
	32 ječmen	7	24
	15 žito	4	15

Obrázek 12. Schéma analytické metody – stanovení trichothecenových mykotoxinů (deoxynivalenol, nivalenol, T-2 tetraol, fusarenon-X, 15-acetyl deoxynivalenol, 3--acetyl deoxynivalenol, diacetoxyscirpenol, HT-2 toxin a T-2 toxin) a zearalenonu



Ve vzorcích **sklizně 1999** byl ve většině okresů nalezen NIV i DON, ve 40% případů (6 z 15) byly vyšší průměrné nálezy NIV; v 53,3% případů (8 z 15) byly vyšší průměrné nálezy DON a v 6,7% případů (1 z 15) byly nálezy obou mykotoxinů pod limitem stanovitelnosti metody. U 69,4% vzorků byl nad mezí stanovitelnosti nalezen NIV, u 10,2% vzorků T-2 tetraol, u 71,4% vzorků DON, u 2% vzorků FUS-X, u 12,2% vzorků 15-ADON, u 2% vzorků 3-ADON, u 6,1% vzorků DAS, u 28,6% HT-2 toxin a u žádného vzorku T-2 toxin. Nalezené koncentrace deoxynivalenolu se u většiny vzorků pohybovaly pod 0,5 mg/kg. Pouze u tří vzorků (vzorek č. 264, 265 a 220) byly nalezeny hladiny DON vyšší než 1 mg/kg (hygienický limit pro mouku v ČR). Nejednalo se o stejnou odrůdu pšenice, ale dva vzorky ze tří pocházely ze stejné lokality, Nový Jičín – Kunín, z čehož lze usuzovat na zvýšené riziko výskytu fusáriových plísní v této lokalitě v roce 1999, resp. zvýšenou pravděpodobnost kontaminace zemědělských komodit sledovanými mykotoxiny. Pouze u jednoho vzorku (vzorek č. 262, odrůda BRUTA, Kožušice - Vyškov) koncentrace DON překročila hygienický limit pro obilí (2 mg/kg). Z porovnání nálezů DON a NIV u daných odrůd pšenice z různých odběrových míst vyplynuly značné rozdíly, viz. **Obrázek 16**. Například u odrůdy HANA byly častější a vyšší nálezy DON, u odrůdy BREA tomu bylo

přesně naopak (vyšší NIV). U obou odrůd je však ve většině lokalit zachován poměr obou mykotoxinů a přibližně i výše nálezů. Svou roli zde zřejmě hraje jak odolnost odrůdy, tak druh či chemotyp houby (mykologické rozbory nebyly v roce 1999 prováděny). Mezi odrůdy náchylné k infekci lze zařadit následující: BREA, HANA, MUNK, NELA, SAXANA, SIDA, SIRIA.

Pokud jde o přítomnost ZEA ve vyšetřených vzorcích sklizně 1999, tato byla zjištěna pouze u tří vzorků (vzorek č. 265, 216, 270). Mezi koncentrací ZEA a trichothecenů (DON) nebyla u analyzovaných vzorků nalezena žádná korelace.

Ve vzorcích **sklizeň 2000** bylo hodnoceno celkem 47 vzorků různých odrůd ozimé pšenice ze čtyřiceti okresů České republiky. Přítomnost některého z fusariových mykotoxinů nad mezí stanovitelnosti byla prokázána u 95,7 % vzorků (45 ze 47). Četnost výskytu jednotlivých fusariových mykotoxinů byla následující: DON 87,2 %, NIV 42,6 %, T-2 tetraol 8,5 %, FUS-X 10,6%, 15-ADON 25,5 %, 3-ADON 10,6 %, HT-2 toxin 25,5 %, T-2 toxin 8,5 % a ZEA 19,1 %. U žádného z vyšetřených vzorků nebyl nalezen DAS. Dominantními mykotoxiny byly deoxynivalenol (DON) a nivalenol (NIV), častý byl i výskyt HT-2 toxinu. Koncentrace DON, který je obecně považován za marker výskytu trichothecenových mykotoxinů, byla u 74,5 % vzorků (35 ze 47) vyšší než koncentrace NIV. Hygienický limit stanovený v ČR (2 mg/kg) nebyl překročen u žádného ze vzorků. Nejvyšší hladina DON byla nalezena u odrůdy Ebi (okres Jičín) 805,0 µg/kg. Nejvyšší nález NIV, 428,6 µg/kg, byl nalezen u odrůdy Contra (okres Ostrava). Průměrný obsah trichothecenů (tj. suma trichothecenů) pro jednotlivé odrůdy pšenice (sklizeň 2000) nepřekračuje hladinu 1 mg/kg a u 81% odrůd se pohybuje pod 0,5 mg/kg. Z grafického porovnání nálezů se sklizní 1999 (viz. **Obrázky 13-14**) vyplývá, že v roce 2000 byla kontaminace ozimé pšenice trichothecenovými mykotoxiny nižší než v roce 1999, patrně díky nevhodným klimatickým podmínkám pro růst fusárií (suché léto 2000). Mezi odrůdy s nejnižšími hladinami trichothecenů můžeme zařadit odrůdy : SULAMIT, APACHE, BRUTA, MONA, SAMANTA a VLASTA. Obsahy trichothecenů se liší nejen v případě pěstování jedné odrůdy ozimé pšenice, viz. **Obrázek 17**, ale i pokud srovnáme meziročně obsah mykotoxinů v jednom okrese pro jednu odrůdu, viz. **Obrázek 18**.

Zearalenon (ZEA) se vyskytoval ve vzorcích sklizně roku 2000 na koncentračních hladinách řádově nižších v porovnání s přítomnými trichotheceny (max. desítky µg/kg). Nebyla nalezena žádná korelace mezi produkcí DON a ZEA. Přítomnost ZEA ve vyšetřovaných vzorcích, která byla častější v porovnání se vzorky sklizně 1999 (19,1 % z

celkového počtu vzorků), je jen dalším důkazem širokého spektra druhů hub rodu *Fusarium* přirozeně se vyskytujících na území ČR.

Ze **sklizeň 2001** byly hodnoceny vzorky různých odrůd ozimé pšenice odebrané ze 45 okresů ČR, ječmene jarního z 24 okresů ČR a žita z 15 okresů ČR.

Hodnoceno bylo celkem 55 vzorků různých odrůd **pšenice ozimé**. Nálezy jednotlivých trichothečenů ve všech sledovaných vzorcích pšenice shrnuje **Tabulka 9**. Přítomnost některého z fusáriových mykotoxinů nad mezí stanovitelnosti (LOQ - pro každý sledovaný analyt je uvedena v Tabulce 7) byla prokázána u 54 vzorků (z 55). Četnost výskytu jednotlivých fusáriových mykotoxinů je shrnuta na **Obrázku 19**. Oproti předešlým sklizním došlo ke značnému nárůstu počtu vzorků, u kterých byl identifikován HT-2 toxin a T-2 toxin v koncentracích často převyšujících obsah DON ve vzorku. Tento fakt svědčí o výskytu jiného spektra druhů hub rodu *Fusarium*, což bylo potvrzeno i mykologickým rozbořem. Mimo *F. graminearum* nebo *F. culmorum* byly identifikovány i např. *F. tricinctum*, *F. poae*, *F. oxysporum*, které patří mezi producenty trichothečenů typu A, kam řadíme i HT-2 toxin a T-2 toxin. Koncentrace DON, který je obecně považován za marker výskytu trichothečenových mykotoxinů, byla u 77,7 % vzorků (35 ze 45) vyšší než koncentrace NIV. Hygienický limit pro DON stanovený v ČR (2 mg/kg) nebyl překročen u žádného ze vzorků. Nejvyšší hladina DON byla nalezena u odrůdy Ebi (Ústí nad Orlicí) 721,9 µg/kg. Nejvyšší nález HT-2 toxinu 2160,3 µg/kg, byl nalezen u odrůdy Hana (okres Pardubice).

Průměrný obsah trichothečenů (tj. suma trichothečenů) překročil hladinu 2 mg/kg pouze u tří vzorků a u 60 % vzorků nepřekračoval hladinu 1 mg/kg. Z grafického porovnání nálezů, viz. **Obrázky 13-15**, v jednotlivých letech vyplývá, že v roce 2001 byla celková kontaminace pšenice ozimé fusáriovými mykotoxiny vyšší oproti sklizním 1999 a 2000. Koncentrace DON se však u všech vyšetřených vzorků tak jako v roce 2000 pohybují na nízkých hladinách (pod 200 µg/kg). Mezi odrůdy s nejnižšími hladinami trichothečenů lze zařadit odrůdy : Šárka, Saskia, Samanta a Bruta.

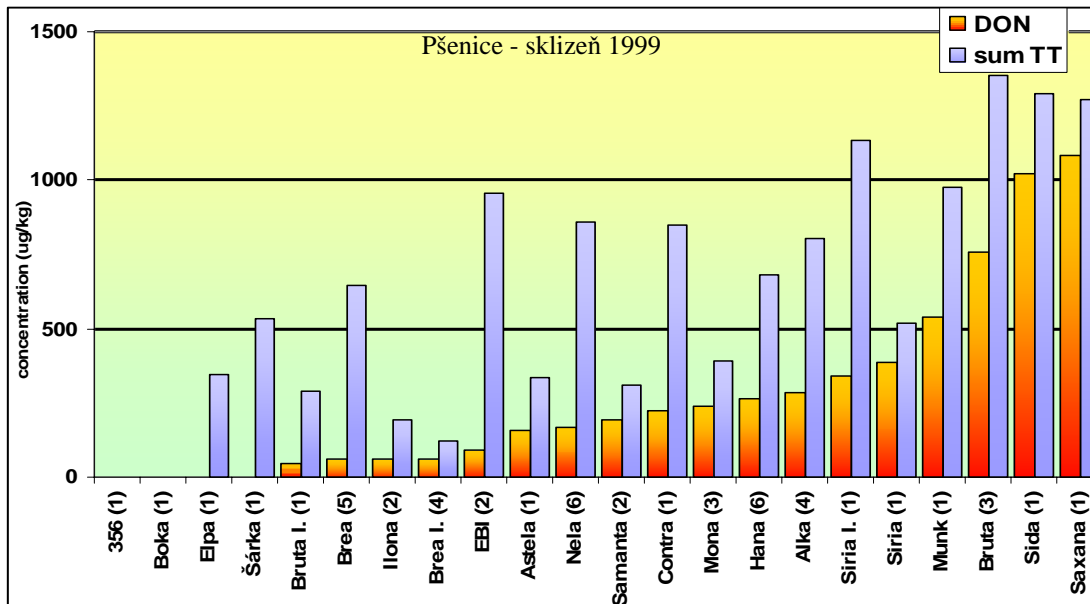
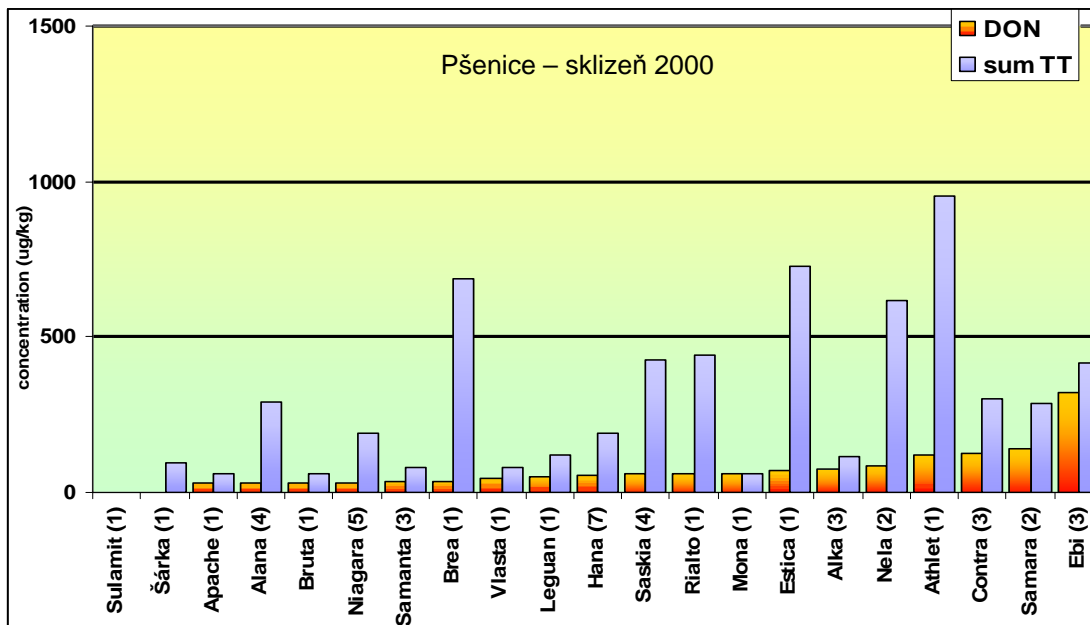
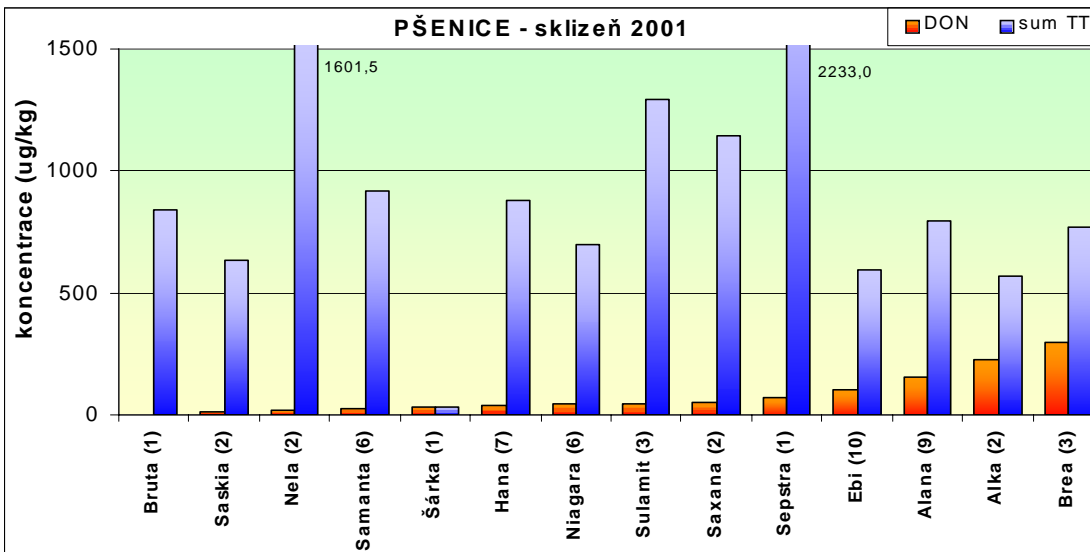
Zearalenon (ZEA) se vyskytoval pouze v 14,5 % vzorcích pšenice (8 z 55) a jeho hladina nepřekročila koncentraci 50 µg/kg. Přítomnost ZEA ve vyšetřovaných vzorcích je jen dalším důkazem širokého spektra druhů hub rodu *Fusarium* přirozeně se vyskytujících na území ČR.

Dále bylo hodnoceno celkem 32 vzorků různých odrůd **ječmene jarního**. Nálezy jednotlivých trichothečenů ve všech sledovaných vzorcích shrnuje **Tabulka 10**. Nalézané hladiny fusáriových mykotoxinů se pohybovaly na stejné úrovni jako u vzorků pšenice, viz.

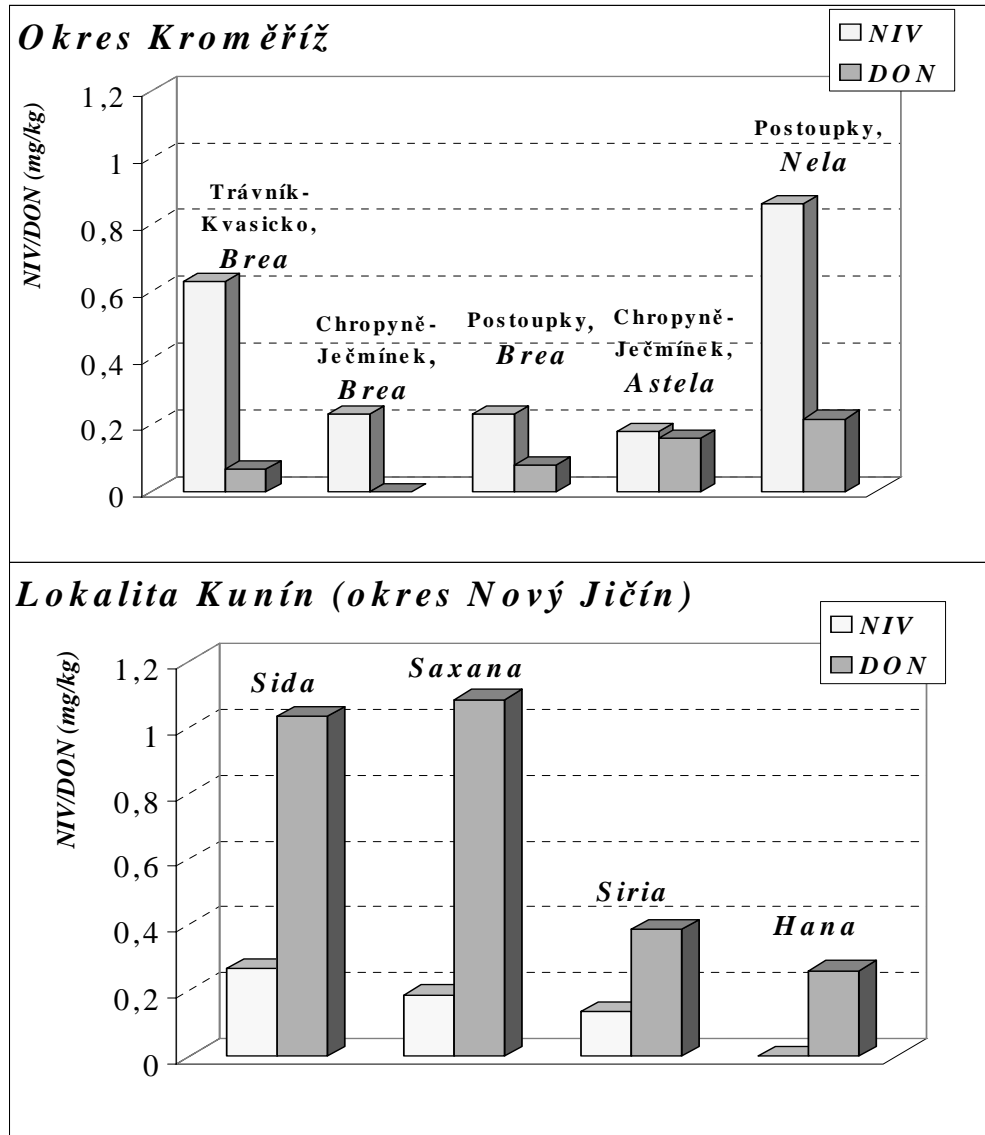
Obrázek 20. U jednoho vzorku (odrůda AMULET – okres Svitavy – nález 2021,9 µg/kg) byl překročen hygienický limit pro DON (2 mg/kg). Koncentrace DON, který je obecně považován za marker výskytu trichothečenů, byla u 62,5 % vzorků (tj. 15 z 24) vyšší než koncentrace NIV a celkově byl nalezen u 84,4 % vzorků. Trichotheceeny typu A (HT-2 toxin a T-2 toxin) byly identifikovány v menší míře (HT-2 toxin přítomen u 21,9 % vzorků, T-2 toxin přítomen u 40,6 % vzorků).

Hodnoceno bylo také 15 vzorků čtyř **odrůd žita**. Nálezy jednotlivých trichothečenů ve všech sledovaných vzorcích shrnuje **Tabulka 11**. Úroveň kontaminace vzorků žita v porovnání s pšenicí a ječmenem byla velmi nízká. Přítomen byl u všech vzorků pouze DON (maximální naměřená koncentrace 190,6 µg/kg) a 15-ADON (maximální naměřená koncentrace 46,3 µg/kg). Ostatní trichotheceeny se vyskytovaly pouze ojediněle. Porovnání hladin DON u odrůdy LOCARNO v jednotlivých sledovaných lokalitách ČR je uvedeno na **Obrázku 21**.

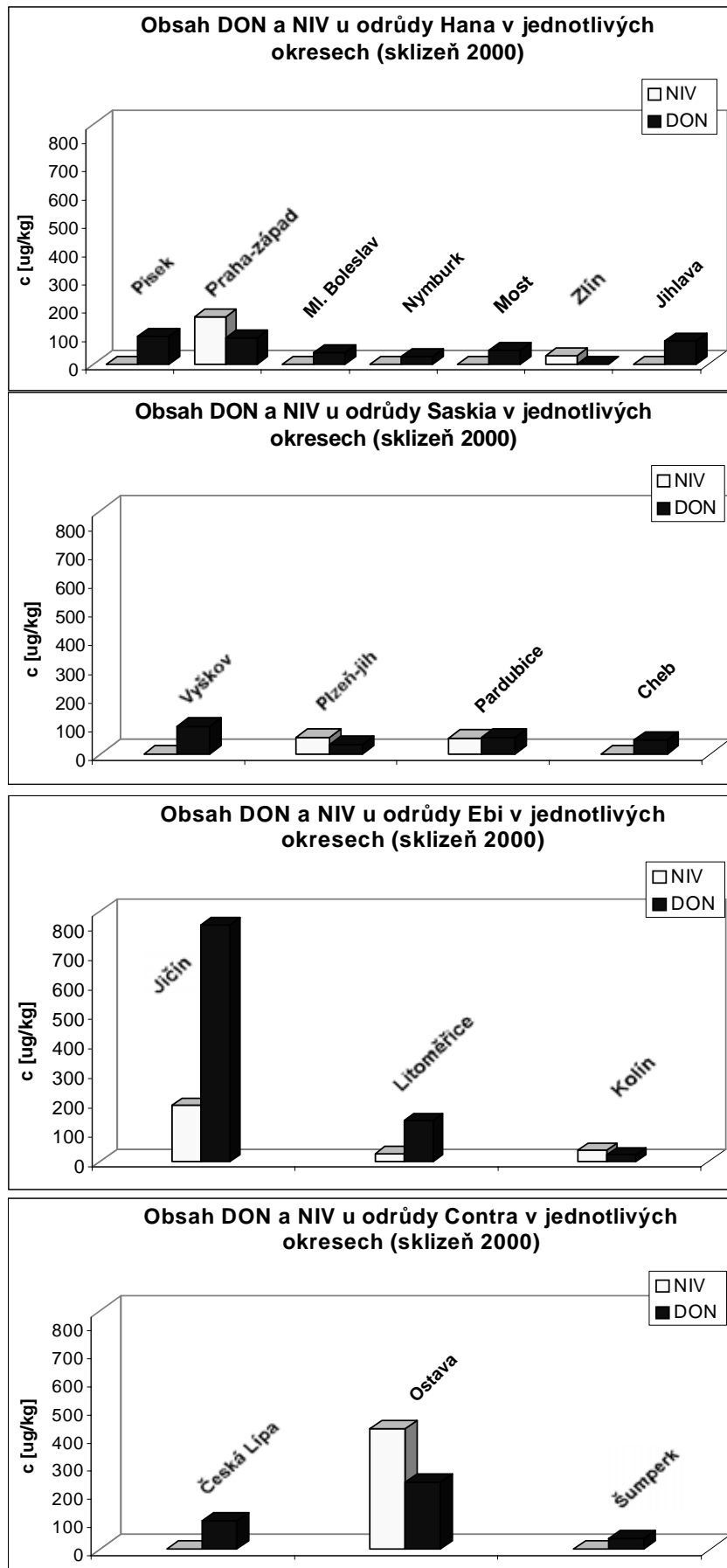
Obrázky 13-15. Hladiny trichothečenů ve vzorcích pšenice ozimé, sklizeň 1999 - 2001
(čísla u jednotlivých odrůd udávají počet odebraných vzorků)

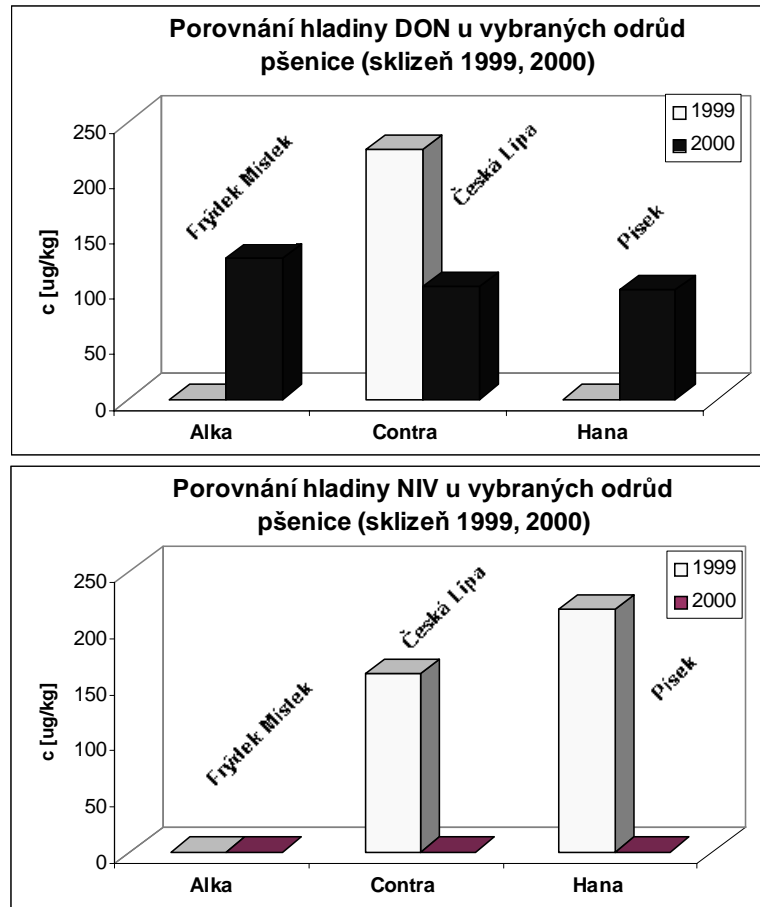
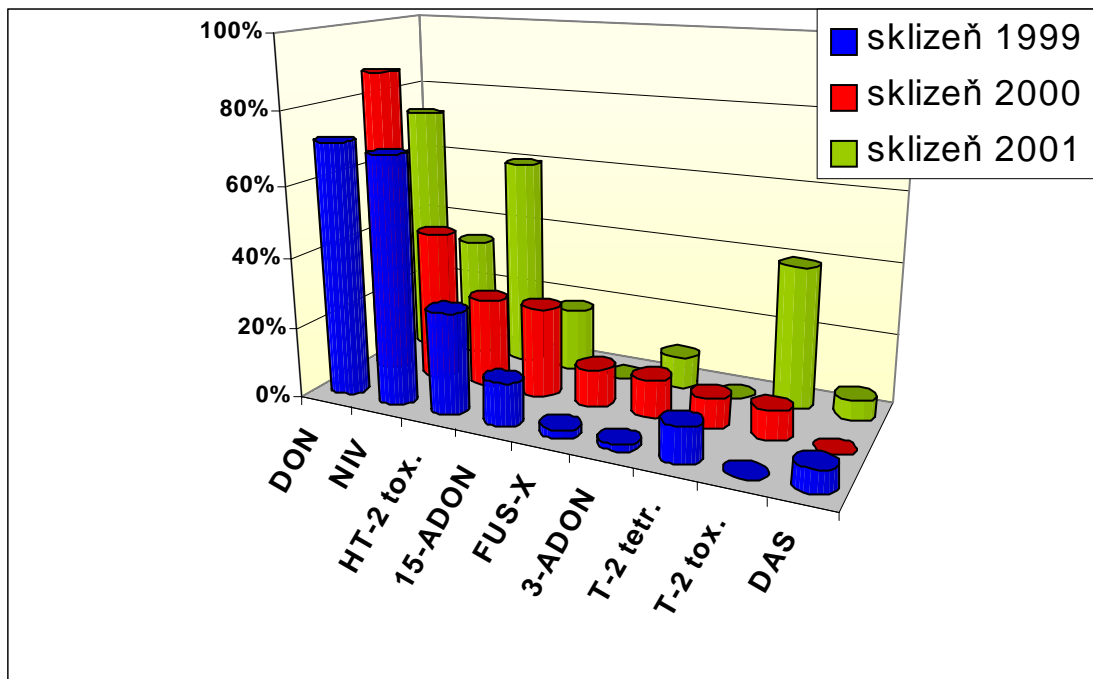


Obrázek 16. Nálezy NIV a DON ve vzorcích z vybraných lokalit, sklizeň 1999

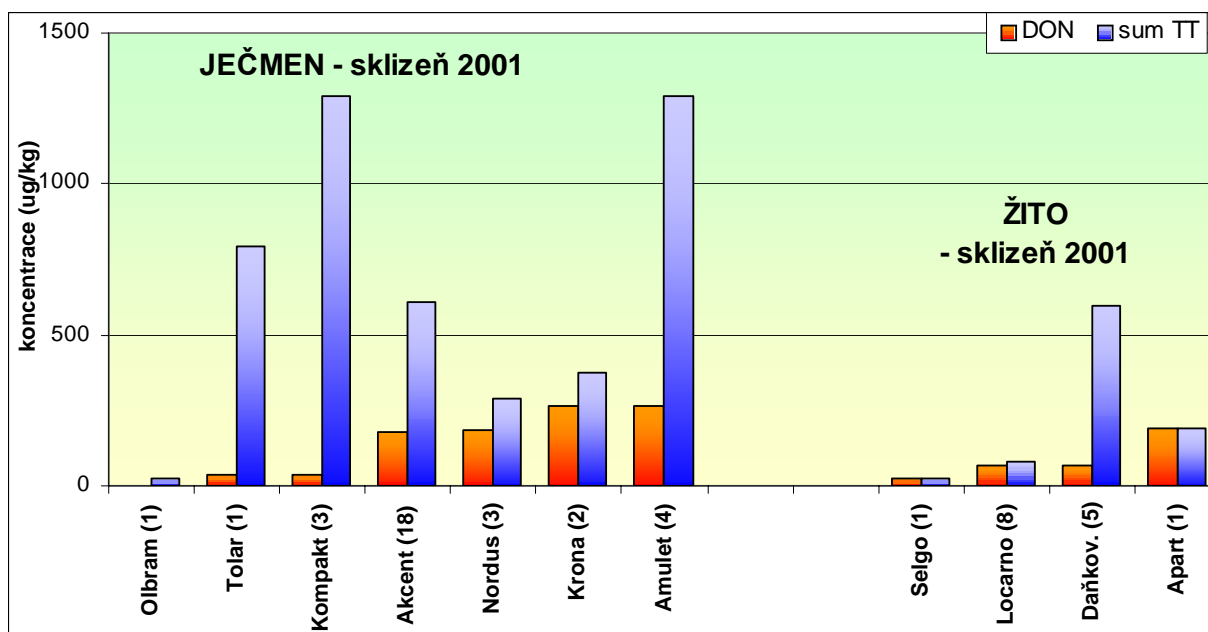


Obrázek 17. Porovnání obsahu DON a NIV v jednotlivých odrůdách pěstovaných v různých okresech ČR – sklizeň 2000

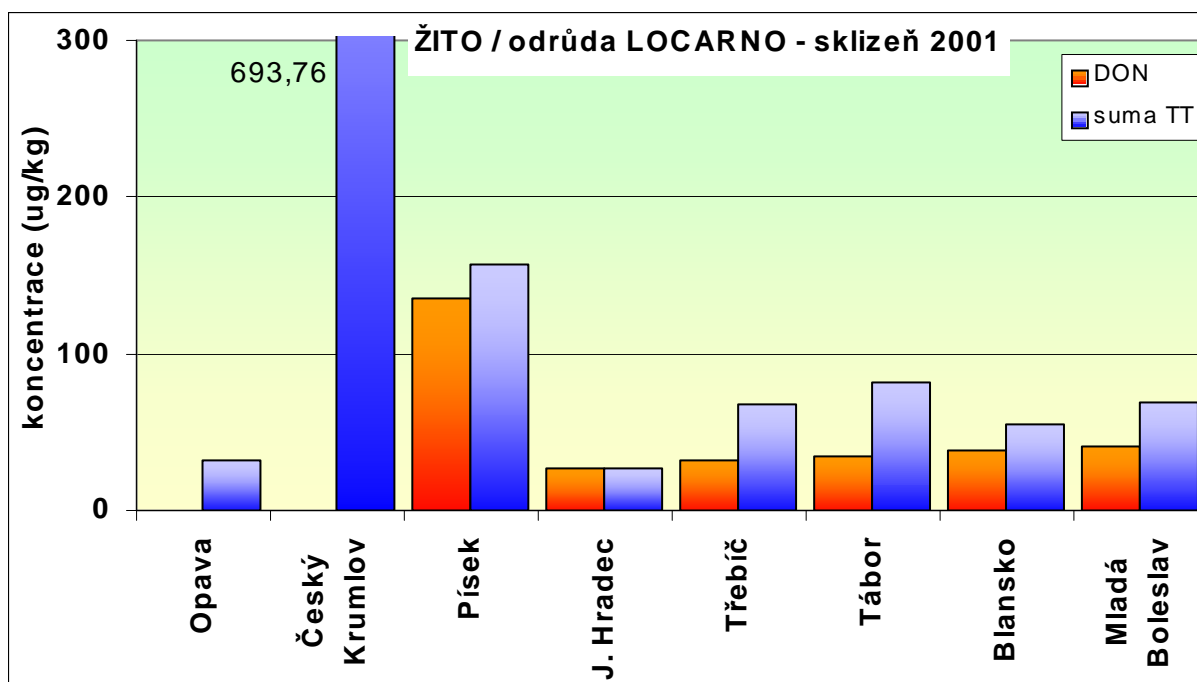


Obrázek 18. Meziroční srovnání obsahu DON a NIV pro vybrané odrůdy**Obrázek 19.** Porovnání výskytu sledovaných trichotheceenových mykotoxinů ve vzorcích pšenice v jednotlivých letech

Obrázek 20. Výskyt fusáriových mykotoxinů ($\mu\text{g}/\text{kg}$) ve vzorcích ječmene a žita – sklizeň 2001



Obrázek 21. Porovnání hladin DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) u odrůdy LOCARNO v jednotlivých sledovaných lokalitách – sklizeň 2001



Tabulka 7. Přehled nálezů fusáriových mykotoxinů (µg/kg) v analyzovaných vzorcích – sklizeň 1999

Vz.č	Odrůda	Lokalita	Okres	NIV	T-2 tetr.	DON	FUS-X	15-	3-ADON	DAS	HT-2	T-2 tox	ZEA
604	Contra	Česká Lípa-ZOD Brniště	Česká Lípa	159,2	< LOQ	225,0	< LOQ	-	-	-	467,3	-	< LOQ
605	Hana	Česká Lípa-ZOD Brniště	Česká Lípa	< LOQ	< LOQ	134,9	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	-	-	-
602	Mona	Česká Lípa-ZOD Brniště	Česká Lípa	97,5	-	193,5	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	-	< LOQ	-
603	Šárka	Česká Lípa-ZOD Brniště	Česká Lípa	-	-	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	533,1	-	-
76	Alka	Krmelín	Frýdek	< LOQ	-	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	342,7	-	-
579	Nela	Dolní Cerkev	Jihlava	253,2	-	< LOQ	< LOQ	-	-	-	-	-	-
97	356	Kolín	Kolín	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	-	-	-
587	Brea	Chrčice	Kolín	259,7	-	70,9	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	-	-
582	Elpa	Police u Kolína	Kolín	346,2	-	< LOQ	-	< LOQ	-	-	-	-	-
94	Mona	Kolín	Kolín	207,4	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	-	-	< LOQ
583	Munk	Kutlíře	Kolín	437,3	-	540,1	-	< LOQ	< LOQ	-	-	-	-
93	Nela	Kolín	Kolín	545,0	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	272,8	-	-
45	Astela	Chropyně-Ječmínek	Kroměříž	180,6	< LOQ	157,4	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	-	< LOQ	< LOQ
71	Brea	Chropyně-Ječmínek	Kroměříž	232,5	-	< LOQ	-	< LOQ	< LOQ	-	-	-	-
74	Brea	Postoupky	Kroměříž	231,5	-	77,1	-	< LOQ	-	-	-	-	-
70	Brea	Trávník-Kvasicko	Kroměříž	626,9	-	68,3	< LOQ	< LOQ	< LOQ	400,6	83,3	-	< LOQ
80	Ilona	Trávník-Kvasicko	Kroměříž	229,2	< LOQ	74,5	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	-	< LOQ	-
75	Nela	Postoupky	Kroměříž	861,4	-	217,1	< LOQ	< LOQ	-	-	-	-	-
77	Alka	Plazy	Mladá	128,6	< LOQ	< LOQ	-	< LOQ	< LOQ	-	855,5	-	-
267	Hana	Nový Jičín-Kunín	Nový Jičín	< LOQ	-	261,2	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	306,5	-	-
265	Saxana	Nový Jičín-Kunín	Nový Jičín	186,3	-	1083,1	< LOQ	< LOQ	-	-	-	-	38,5
264	Sida	Nový Jičín-Kunín	Nový Jičín	266,6	-	1023,2	-	< LOQ	-	-	-	-	-
266	Siria	Nový Jičín-Kunín	Nový Jičín	135,5	-	384,4	< LOQ	< LOQ	-	-	-	-	-
509	Ilona	Městec Králové	Nymburk	< LOQ	32,2	49,6	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	-	-	-
220	Alka	Opava-Kateřinky	Opava	432,9	-	1071,6	-	-	-	< LOQ	-	-	-
219	EBI	Opava-Kateřinky	Opava	< LOQ	< LOQ	131,3	< LOQ	372,8	< LOQ	-	418,8	-	-
218	Mona	Opava-Kateřinky	Opava	157,3	-	521,1	< LOQ	-	-	-	-	-	-
216	Nela	Opava-Kateřinky	Opava	483,2	-	289,6	104,1	271,2	-	-	-	-	18,0
535	Boka	Kestřany	Písek	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	-	-	-
532	Brea 1	Kestřany	Písek	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	-	-	-
538	Brea 1	Kestřany	Písek	< LOQ	27,4	79,5	< LOQ	< LOQ	-	-	-	-	-
533	Bruta 1	Kestřany	Písek	241,5	< LOQ	47,6	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	-	-	-
539	Hana	Kestřany	Písek	216,5	-	< LOQ	< LOQ	-	-	-	-	-	-
534	Samant	Kestřany	Písek	130,8	< LOQ	45,7	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	-	-	-
536	Siria 1	Kestřany	Písek	135,6	26,6	343,0	< LOQ	279,3	348,1	-	-	-	-
141	Alka	Dolní Břežany	Praha-	< LOQ	< LOQ	65,3	< LOQ	316,8	< LOQ	-	-	-	-
143	EBI	Dolní Břežany	Praha-	105,6	< LOQ	47,4	< LOQ	330,4	< LOQ	-	504,1	-	-
269	Hana	Hustopeče nad Bečvou	Přerov	< LOQ	-	319,8	-	-	-	-	-	-	-
98	Hana	Rokytnice u Přerova	Přerov	< LOQ	< LOQ	432,8	-	< LOQ	< LOQ	-	782,1	-	-
99	Hana	Rokytnice u Přerova	Přerov	285,9	82,2	427,0	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	836,9	-	-
271	Nela	Hustopeče nad Bečvou	Přerov	103,0	< LOQ	294,1	< LOQ	-	-	-	533,7	-	-
270	Samant	Hustopeče nad Bečvou	Přerov	96,2	< LOQ	344,5	-	-	-	-	-	-	23,0
609	Brea 1	Třebohostice-ZD	Strakonice	< LOQ	< LOQ	125,1	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	-	-	-
262	Bruta	Kožušice-Agrola	Vyškov	347,2	-	2265,2	< LOQ	< LOQ	-	-	-	-	-
268	Nela	Kojátky-Jan Šafránek	Vyškov	< LOQ	< LOQ	205,2	< LOQ	335,9	< LOQ	-	377,3	-	-
3	Brea	Vedrovice	Znojmo	353,5	-	80,2	< LOQ	-	-	578,7	167,9	-	-
588	Brea 1	Jezeřany-Maršovice	Znojmo	181,6	24,6	48,8	< LOQ	< LOQ	-	-	-	-	-
78	Bruta	Znojmo	Znojmo	441,8	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	< LOQ	526,0	-	-	-
79	Bruta	Znojmo	Znojmo	474,9	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	< LOQ	-	-	< LOQ	-

Tabulka 8. Nálezy fusariových toxinů (µg/kg) ve vzorcích ozimé pšenice – sklizeň 2000

Vzorek	Odrůda	Okres	NIV	T-2 tetr.	DON	FUS-X	15-ADON	3-ADON	DAS	HT-2 tox.	T-2 tox.	ZEA
215	Saskia	Vyškov	-	-	97,0	51,0	-	59,5	-	-	-	-
256	Alka	Frydek Místek	-	91,2	126,7	-	-	-	-	-	-	-
708	Hana	Písek	-	-	98,3	189,0	-	-	-	-	-	-
1140	Contra	Česká Lípa	-	-	101,3	-	49,8	-	-	-	-	-
333	Ebi	Jičín	191,2	< LOQ	805,0	-	-	21,1	-	-	-	-
721	Niagara	Strakonice	-	-	49,9	-	-	-	-	642,9	-	-
1340	Alana	Kutná Hora	-	< LOQ	59,0	-	-	-	-	-	-	7,6
234	Alana	Pardubice	-	-	-	-	31,1	76,9	-	476,1	-	-
342	Saskia	Plzeň-jih	58,9	< LOQ	32,1	24,2	-	-	-	594,7	-	-
504	Leguan	Olomouc	41,2	-	48,2	-	29,0	< LOQ	-	-	-	-
228	Samara	Ústí n./O	51,7	< LOQ	67,3	-	22,7	-	-	-	-	< LOQ
858	Samara	Český Krumlov	192,9	-	209,3	-	26,7	< LOQ	-	-	-	-
863	Alana	Prachatice	-	-	36,4	28,6	45,6	< LOQ	-	-	-	< LOQ
438	Nela	Praha-západ	77,3	21,5	48,3	< LOQ	21,6	< LOQ	-	511,1	-	8,6
437	Hana	Praha-západ	166,4	29,9	92,0	-	19,9	-	-	530,7	-	< LOQ
1025	Saskia	Pardubice	54,1	-	58,2	-	-	-	-	-	-	-
389	Brea	Litoměřice	73,6	< LOQ	37,3	-	33,1	-	-	541,3	-	< LOQ
334	Estica	Jičín	100,0	-	72,2	-	28,2	-	-	525,8	-	-
388	Ebi	Litoměřice	26,7	< LOQ	138,8	< LOQ	< LOQ	-	-	-	-	12,6
304	Alana	Domažlice	61,5	-	27,7	< LOQ	< LOQ	-	-	320,0	-	-
10	Šarka	Hodonín	-	38,4	-	31,6	23,2	-	-	-	-	18,6
165	Nela	Tábor	-	-	76,1	< LOQ	< LOQ	-	-	481,1	-	13,1
164	Hana	Mladá Boleslav	-	< LOQ	39,2	-	-	-	-	-	-	-
702	Hana	Nymburk	-	< LOQ	25,5	-	< LOQ	-	-	-	-	-
640	Hana	Most	-	< LOD	47,4	-	< LOQ	-	-	-	-	-
17	Hana	Zlín	28,4	-	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	-	-	-	-
631	Ebi	Kolín	39,4	< LOQ	22,8	-	< LOQ	-	-	-	-	7,1
641	Bruta	Teplice	-	< LOQ	31,2	< LOQ	27,5	-	-	-	-	12,2
16	Samanta	Břeclav	37,4	-	< LOQ	< LOQ	< LOQ	-	-	-	-	-
599	Niagara	Rychnov n./K	-	-	44,0	-	-	-	-	-	-	-
23	Niagara	Kroměříž	-	< LOQ	-	-	< LOQ	-	-	-	-	< LOQ
19	Apache	Bruntál	-	-	28,0	< LOQ	< LOQ	30,5	-	-	-	-
1207	Sulamit	Plzeň-sever	-	< LOQ	-	-	< LOQ	-	-	-	-	< LOQ
1073	Mona	Tachov	-	-	62,1	-	-	-	-	-	-	-
1361	Alka	Náchod	-	-	69,8	-	< LOQ	-	-	-	-	8,3
1369	Contra	Ostrava	428,6	< LOD	238,7	-	-	41,4	-	-	-	< LOQ
543	Niagara	Blansko	< LOQ	< LOQ	28,5	-	< LOQ	-	-	-	-	< LOQ
819	Hana	Jihlava	-	-	81,2	-	< LOQ	-	-	-	-	< LOQ
869	Samanta	České Budějovice	45,3	< LOD	32,8	< LOQ	-	-	-	-	< LOQ	< LOQ
566	Saskia	Cheb	-	-	48,0	< LOQ	-	-	< LOQ	284,2	352,0	< LOQ
1048	Alka	Havlíčkův Brod	32,3	-	31,5	-	< LOQ	-	-	-	< LOQ	-
975	Niagara	Hradec Králové	-	-	38,1	-	-	-	-	-	161,0	< LOQ
997	Athlet	Nymburk	-	< LOQ	118,1	-	-	-	-	614,4	221,7	< LOQ
816	Vlasta	Chrudim	35,6	< LOQ	46,3	-	< LOQ	-	-	-	< LOQ	16,0
755	Samanta	Kolín	52,1	< LOD	68,4	< LOQ	< LOQ	-	-	-	-	-
626	Contra	Šumperk	-	< LOD	37,7	-	< LOQ	-	-	-	< LOQ	< LOQ
939	Rialto	Karviná	-	-	60,6	< LOQ	-	-	-	175,0	205,0	-

Tabulka 9. Nálezy fusáriových toxinů (µg/kg) ve vzorcích pšenice ozimé – sklizeň 2001

č.vz.	odrůda	okres	NIV	T-2 tetr	DON	FUS-X	15-ADON	3-ADON	DAS	HT-2 tox	T-2 tox	ZEA
511	Ebi	Ústí n/ Orlicí	pod LOQ	-	721,9	pod LOQ	-	-	-	452,8	569,8	37,4
364	Alana	Čáslav	33,9	pod LOQ	427,7	pod LOQ	-	-	-	1242,7	986,3	-
540	Alana	Kutná Hora	-	-	381,8	5,9	-	-	-	-	-	11,9
559	Alka	Kolín	15,6	-	312,3	-	17,8	-	-	654,9	-	-
770	Alana	Domažlice	-	-	200,6	pod LOQ	-	20,9	-	-	-	14,5
488	Alana	Frýd.Místek	-	-	198,7	-	-	16,0	-	-	-	10,1
161	Niagara	Kroměříž	-	pod LOD	187,3	-	-	-	-	-	-	8,2
240	Sulamit	Česká Lípa	49,2	-	144,0	pod LOQ	-	pod LOQ	-	786,1	575,4	pod LOQ
128	Alka	Pardubice	pod LOQ	pod LOD	135,5	-	-	-	-	-	-	24,9
557	Ebi	Benešov	-	pod LOD	135,0	pod LOD	15,1	-	-	35,3	305,4	-
615	Brea	Litoměřice	42,1	-	122,2	pod LOQ	-	-	-	1584,9	pod LOQ	-
48	Hana	Břeclav	-	-	98,9	-	-	-	-	632,3	255,6	-
490	Saxana	Jičín	-	-	96,2	-	-	-	-	443,5	-	pod LOQ
127	Hana	Pardubice	pod LOQ	-	86,4	-	284,6	-	-	2160,3	181,2	pod LOQ
69	Samanta	Břeclav	37,7	-	74,6	-	-	-	-	861,7	461,6	-
340	Sepstra	Olomouc	16,8	-	68,3	-	-	-	-	1123,1	1024,9	pod LOQ
394	Alana	Chrudim	pod LOQ	-	66,2	-	-	-	-	874,4	467,0	10,6
196	Hana	Nymburk	20,6	pod LOD	54,8	pod LOD	-	-	-	1052,1	360,7	-
523	Niagara	Strakonice	17,1	-	47,0	-	30,8	pod LOQ	1457,0	-	-	-
531	Alana	Havl. Brod	-	-	43,8	pod LOD	-	-	-	-	-	-
648	Saxana	Č. Krumlov	23,4	-	42,9	-	193,8	-	-	1323,9	pod LOQ	-
320	Hana	Šumperk	pod LOQ	pod LOD	42,1	-	-	-	-	349,2	339,1	pod LOQ
830	Ebi	Karlovy Vary	-	-	41,4	pod LOQ	-	pod LOQ	-	-	517,5	-
613	Ebi	Litoměřice	-	-	38,8	pod LOD	-	pod LOQ	-	-	-	-
409	Alana	Tábor	38,5	pod LOQ	38,3	pod LOQ	-	pod LOQ	724,1	-	-	-
7	Šárka	Hodonín	-	-	33,2	-	-	-	-	-	-	pod LOQ
598	Sulamit	Plzeň-sever	-	-	32,7	pod LOQ	21,6	-	-	-	-	-
398	Ebi	Praha-západ	-	-	32,6	-	34,5	pod LOQ	-	-	-	-
609	Niagara	Písek	-	-	32,0	-	-	-	-	-	-	-
747	Ebi	Klatovy	-	-	31,4	-	-	23,5	-	-	-	-
814	Sulamit	Zlín	33,9	pod LOQ	30,5	-	-	-	-	524,3	pod LOQ	-
424	Alana	Blansko	-	-	29,9	pod LOD	-	-	-	60,4	-	-
348	Samanta	Nymburk	pod LOQ	pod LOD	28,2	-	pod LOQ	-	-	487,2	501,5	pod LOQ
281	Niagara	Jihlava	pod LOQ	-	27,5	-	-	-	-	786,6	620,4	-
606	Samanta	Chomutov	41,4	16,8	26,1	-	-	-	-	963,6	pod LOQ	-
309	Samanta	Zlín	28,6	-	25,6	-	-	-	-	759,7	325,2	pod LOQ
982	Saskia	Náchod	48,8	-	24,4	-	26,7	-	-	1564,4	pod LOQ	pod LOQ
387	Ebi	Jičín	-	-	24,3	-	-	-	-	519,7	479,6	-
514	Niagara	Hradec Král.	-	-	19,0	-	-	-	-	-	-	pod LOQ
579	Ebi	Jindř.Hradec	pod LOQ	-	18,6	-	-	-	-	-	-	-
402	Nela	Kolín	-	-	pod LOQ	pod LOD	-	-	-	-	-	-
466	Hana	Ml. Boleslav	-	-	pod LOQ	-	pod LOQ	-	-	-	-	pod LOQ
368	Brea	Č. Krumlov	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
585	Nela	Mělník	15,9	-	-	-	40,4	-	-	1093,5	pod LOQ	-
592	Niagara	Prachatice	46,8	-	-	pod LOQ	-	25,2	-	1209,6	pod LOQ	-
980	Samanta	Most	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	Brea	Prostějov	-	-	-	-	17,6	15,7	-	-	732,5	47,0
225	Hana	Praha-západ	pod LOQ	-	pod LOQ	-	-	-	-	1401,3	1071,4	pod LOQ
260	Ebi	Bruntál	18,4	pod LOD	-	pod LOQ	pod LOQ	-	-	595,6	570,0	-
262	Ebi	Jeseník	pod LOQ	-	pod LOD	-	pod LOQ	-	266,8	512,3	-	-
274	Saskia	Vyškov	pod LOQ	pod LOD	pod LOQ	-	pod LOD	-	-	363,4	-	-
284	Bruta	Louny	20,8	-	pod LOD	-	-	-	-	508,2	314,1	-
327	Hana	Plzeň-jih	44,0	pod LOQ	-	-	-	-	-	1052,5	867,1	-
334	Alana	Domažlice	-	-	-	-	-	-	-	296,2	273,3	-
337	Samanta	Č. Budějovice	pod LOD	-	pod LOD	pod LOD	-	pod LOD	-	255,6	-	-

Tabulka 10. Nálezy fusáriových toxinů (μg/kg) ve vzorcích ječmene jarního – sklizeň 2001

č.vz	odrůda	okres	NIV	T-2 ter	DON	FUS-X	15-ADON	3-ADON	DAS	HT-2 tox	T-2 tox	ZEА
86	Amulet	Svitavy	26,1	pod LOQ	2021,9	-	212,8	41,9	-	-	-	117,0
8	Krona	Prostějov	36,1	15,6	964,8	-	141,5	-	-	-	-	16,5
11	Nordus	Kroměříž	118,6	-	494,0	-	72,5	-	-	-	-	25,6
177	Akcent	Olomouc	-	-	320,0	-	51,4	-	-	456,0	638,6	pod LOQ
39	Akcent	Opava	87,0	pod LOQ	238,1	-	39,2	-	-	-	-	pod LOD
172	Akcent	Benešov	237,0	137,7	159,8	-	41,3	-	-	-	-	-
154	Akcent	Blansko	-	-	126,0	-	41,5	-	-	-	-	-
75	Akcent	Kroměříž	145,0	19,1	79,6	-	35,9	-	-	-	933,6	pod LOQ
65	Akcent	Nymburk	-	pod LOQ	72,2	-	33,8	-	-	-	260,3	-
103	Akcent	Přerov	-	31,6	71,4	-	56,6	-	-	-	-	pod LOD
15	Akcent	Louny	-	pod LOQ	62,9	-	19,9	-	-	-	499,7	-
186	Kompakt	Rokycany	60,7	20,7	62,0	-	47,1	-	-	1740,4	1185,4	-
131	Akcent	Třebíč	-	38,0	50,1	-	56,5	-	-	-	479,8	-
122	Tolar	Olomouc	-	pod LOQ	36,8	-	22,6	-	-	-	732,1	pod LOD
47	Nordus	Plzeň-jih	-	pod LOQ	33,7	-	34,4	-	-	-	-	-
146	Kompakt	Plzeň-sever	89,6	34,2	27,9	-	26,5	-	-	-	-	-
149	Nordus	Domažlice	58,5	pod LOQ	27,6	-	21,5	-	-	-	-	-
24	Amulet	Brno	-	pod LOQ	25,0	-	24,2	-	-	-	367,4	-
180	Amulet	Beroun	pod LOQ	pod LOQ	23,5	-	20,5	-	-	-	-	-
9	Kompakt	Prostějov	36,6	-	23,3	-	31,1	-	-	-	480,4	-
216	Akcent	Jindř.Hradec	59,0	pod LOQ	19,6	-	55,7	-	-	-	-	-
5	Akcent	Olomouc	17,8	-	-	-	-	-	-	1206,8	704,5	15,3
20	Olbram	Znojmo	-	pod LOD	pod LOQ	-	24,7	-	-	-	-	-
25	Akcent	Brno	-	pod LOQ	pod LOQ	-	22,1	-	-	-	-	-
42	Akcent	Prostějov	-	pod LOQ	pod LOQ	-	37,1	-	-	-	-	pod LOD
69	Akcent	Klatovy	-	-	-	-	pod LOQ	-	-	466,4	1141,1	-
139	Akcent	Nymburk	24,8	66,4	pod LOQ	-	-	-	-	-	-	-
210	Akcent	Kutná Hora	-	32,4	pod LOQ	-	-	-	-	31,9	-	-
214	Amulet	Prostějov	26,2	-	pod LOQ	-	-	16,7	-	1252,7	848,9	-
245	Akcent	Litoměřice	-	pod LOD	-	-	49,5	-	-	-	-	-
337	Krona	Nový Jičín	-	-	-	-	-	pod LOQ	-	-	709,5	-
506	Akcent	Prachatice	-	-	-	-	-	-	-	1298,3	-	-

Tabulka 11. Nálezy fusáriových toxinů (μg/kg) ve vzorcích žita – sklizeň 2001

č.vz.	odrůda	okres	NIV	T-2 ter	DON	FUS-X	15-ADON	3-ADON	DAS	HT-2 tox	T-2 tox	ZEА
17	Apart	Bruntál	-	-	190,6	-	-	-	-	-	-	46,6
75	Daňkov.nové	Přerov	pod LOQ	pod LOD	143,0	-	19,7	-	-	303,7	621,2	311,4
54	Locarno	Písek	-	-	135,2	-	22,1	-	-	-	-	-
104	Daňkov.nové	Nový Jičín	-	5,4	63,8	-	-	-	-	-	-	-
64	Daňkov.nové	Chrudim	-	-	60,7	-	17,2	-	-	-	-	-
101	Daňkov.nové	Klatovy	-	-	54,6	-	40,5	-	-	-	-	-
58	Daňkov.nové	Strakonice	-	-	41,0	-	33,7	-	-	-	-	-
93	Locarno	Mladá Bol.	-	-	40,3	-	29,1	-	-	-	-	-
32	Locarno	Blansko	-	-	38,6	-	16,3	-	-	-	-	14,9
85	Locarno	Tábor	-	-	34,9	-	46,3	-	-	-	-	-
10	Locarno	Opava	-	-	31,7	-	36,4	-	-	-	-	-
74	Locarno	J.Hradec	-	-	26,7	-	pod LOQ	-	-	-	-	28,7
28	Selgo	Příbram	-	-	22,6	-	-	-	-	-	-	11,4
20	Locarno	Třebíč	-	-	pod LOQ	-	31,5	-	-	-	-	19,5
37	Locarno	Č.Krumlov	pod LOQ	pod LOD	pod LOQ	pod LOQ	-	26,4	-	297,8	369,6	-

3.2. SLEDOVÁNÍ VÝSKYTU ALTERNARIOVÝCH A FUSÁRIOVÝCH MYKOTOXINŮ VE ODEBRANÝCH VZORCÍCH JEČMENE JARNÍHO SPOLU S POSOUZENÍM VLIVU ZEMĚDĚLSKÝCH PRAKTIK NA JEJICH HLADINU

Vzorky jarního ječmene (odrůda Prestige a Kompakt) pro vyšetření mykotoxinů produkovaných mikromycetami rodu *Alternarium* a *Fusarium* byly získány ve spolupráci se Zemědělským výzkumným ústavem Kroměříž (ZVÚ). U těchto vzorků nebyla provedena žádná umělá infekce alternárii ani fusárii a měl být zmapován potenciální přirozený výskyt mykotoxinů v pěstební lokalitě Ivanovice na Hané, popř. diskutován vliv agrotechnologie na obsah stanovovaných mykotoxinů. Jak je uvedeno v **Tabulce 12**, ze sledovaných tří alternariových mykotoxinů (ALT, AOH, AME) byl kvantifikován pouze u jednoho z analyzovaných vzorků alternariol (konc. 10,1 µg/kg).

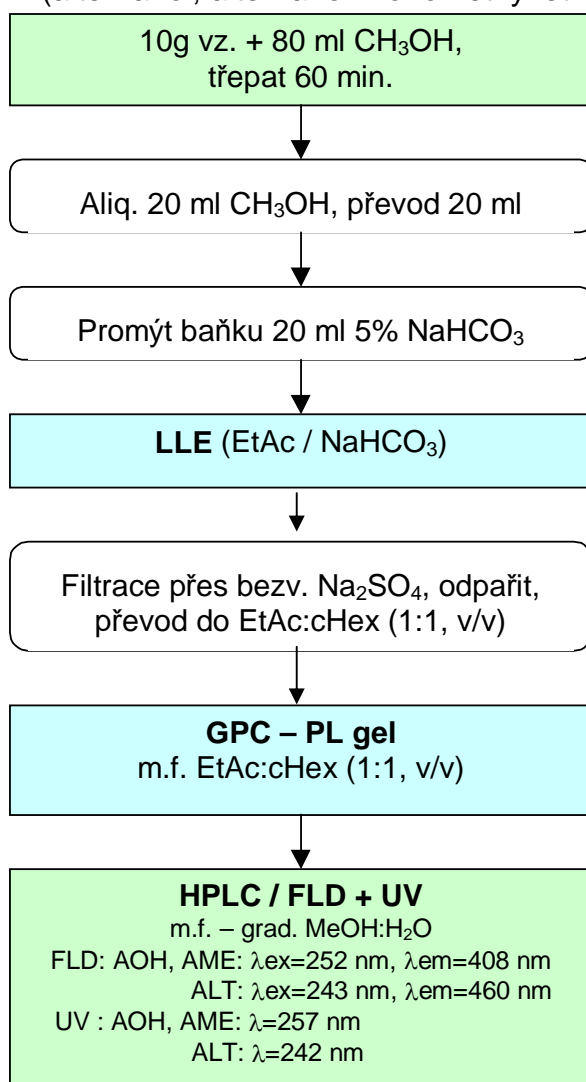
Schéma analytické metody použité pro stanovní obsahu sledovaných alternariových mykotoxinů ve vybraných vzorcích je uvedeno na **Obrázku 22**. Fusariové mykotoxiny byly stanoveny pomocí akreditované metody zmiňované již v předešlé kapitole. Z trichothecenových mykotoxinů bylo sledováno spektrum devíti vybraných analytů: DON, NIV, T-2 tetraol, FUS-X, 15-ADON, 3-ADON, DAS, HT-2 toxin a T-2 toxin a zároveň bylo provedeno také stanovení obsahu zearalenonu, který jako další z mykotoxinů produkovaných rodem *Fusarium* bývá často přítomen v napadených vzorcích spolu s trichothecenovými mykotoxiny. Uvedené mykotoxiny byly stanoveny pomocí akreditované metody zmiňované již v předešlé kapitole.

Ve vzorcích ječmene bylo identifikováno spolu se ZEA širší spektrum trichothecenů (viz. **Obrázek 23**), nejenom dominantní trichotheceny typu B: DON a T-2 tetraol, ale i 15-ADON, 3-ADON, FUS-X, HT-2 toxin a T-2 toxin, které jsou produkovány různými druhy hub rodu *Fusarium* (mimo pravděpodobně přítomné *F. culmorum* a *F. graminearum* (producenti trichothecenů typu B) lze uvažovat ještě o výskytu *F. poae*, *F. crookwellance*, popř. *F. oxysporum* – producenti trichothecenů typu A). Koncentrace DON se pohybovaly v rozmezí 20 - 70 µg/kg, ZEA v rozmezí 6 - 15 µg/kg, viz. **Tabulka 13**.

Zajímavé bylo sledování vztahu agrotechnických zásahů (orba 22 cm, orba 15 cm, disk 15 cm a bez orby), předplodin (kukuřice, pšenice ozimá a ječmen jarní) a nálezů trichothecenových mykotoxinů. Výsledky jsou shrnuty na **Obrázcích 24** a **25**. Pro předplodinu kukuřice byla nejúčinnějším agrotechnickým zásahem orba 22 cm, u dalších dvou předplodin, tj. pšenice ozimé a ječmene jarního, nebyl zaznamenán výrazný účinek

kteréhokoli z testovaných agrotechnických zásahů, ale nedošlo v těchto případech ani ke zvýšení obsahu sledovaných trichothecenů (viz. **Obrázek 26 a 27**). Po celkovém zhodnocení použitých půdních ošetření dle přiděleného score (0 = snížení konc. DON, 1 = bez vlivu na konc. DON, 2 = zvýšení konc. DON), jak pro jednotlivé předplodiny tak z pohledu sledovaných mykotoxinů (dle DON, sumy TT a ZEA), lze jako půdní ošetření s pozitivním faktorem ovlivňující hladiny trichothecenů v obilninách (snížení hladin) označit orbu 22 cm, popř. bez orby, viz. **Obrázek 28**.

Obrázek 22. Schéma analytické metody – stanovení alternariových mykotoxinů (alternariol, alternariol monomethyl ether a altenuene)



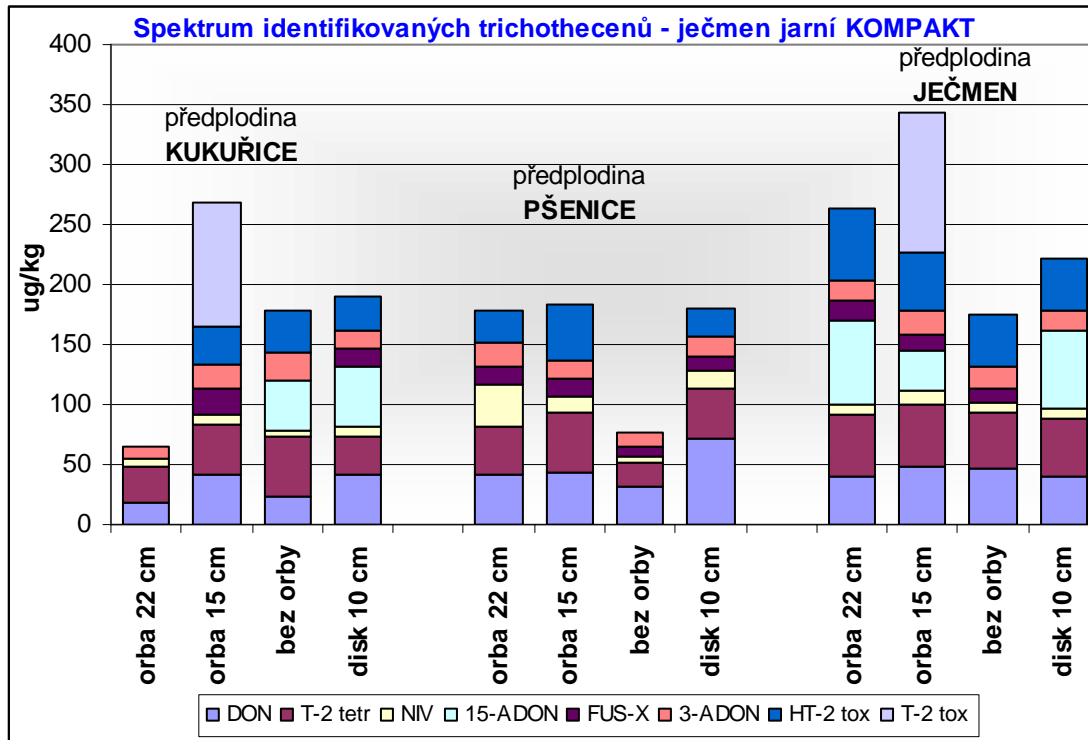
Tabulka 12. Obsah alternariových mykotoxinů ve vzorcích ječmene ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Odrůda	Ošetření půdy	ALT	AOH	AME
Prestige	Bez podmínky	pod LOD	pod LOQ	pod LOD
Prestige	Podmítka 10 cm	pod LOD	10,1	pod LOD
Prestige	Orba 15 cm	pod LOD	pod LOD	pod LOD
Kompakt	Orba 22 cm	pod LOD	pod LOD	pod LOQ
Kompakt	Orba 15 cm	pod LOD	pod LOD	pod LOD
Kompakt	Bez orby	pod LOD	pod LOD	pod LOD
Kompakt	Disk 10 cm	pod LOD	pod LOD	pod LOD
Kompakt	Orba 22 cm	pod LOD	pod LOD	pod LOD
Kompakt	Orba 15 cm	pod LOD	pod LOD	pod LOQ
Kompakt	Bez orby	pod LOD	pod LOD	pod LOD
Kompakt	Disk 10 cm	pod LOD	pod LOD	pod LOD
Kompakt	Orba 22 cm	pod LOD	pod LOD	pod LOD
Kompakt	Orba 15 cm	pod LOD	pod LOD	pod LOD
Kompakt	Bez orby	pod LOD	pod LOD	pod LOD
Kompakt	Disk 10 cm	pod LOD	pod LOD	pod LOD
		LOD	1,2	2,8

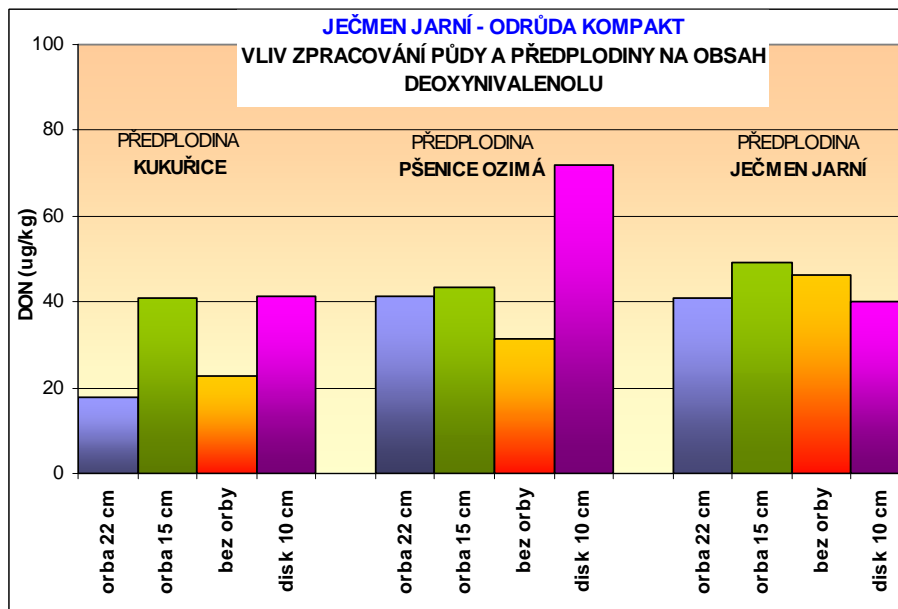
Tabulka 13. Obsah fusáriových mykotoxinů ve vzorcích ječmene ($\mu\text{g}/\text{kg}$) – vliv půdního ošetření na jejich obsah

Odrůda	Předpl.	Zpracování	ug/kg NIV	ug/kg T-2 tetr	ug/kg DON	ug/kg FUS-X	ug/kg 15- ADON	ug/kg 3-ADON	ug/kg DAS	ug/kg HT-2 tox	ug/kg T-2 tox	ug/kg ZEA
Prestige	kukuř.	bez podm.	pod LOD	28,7	560,2	13,4	76,7	36,2	pod LOD	pod LOD	pod LOD	8,12
Prestige	kukuř.	podm. 10 cm	pod LOD	27,9	301,8	17,5	55,1	38,3	pod LOD	pod LOD	109,0	17,14
Prestige	kukuř.	orba 15 cm	8,2	19,3	153,0	9,6	49,7	33,1	pod LOD	pod LOD	pod LOD	13,10
Kompakt	kukuř.	orba 22 cm	6,6	30,9	17,6	pod LOQ	pod LOQ	10,6	pod LOD	pod LOQ	pod LOD	pod LOD
Kompakt	kukuř.	orba 15 cm	9,0	41,9	41,0	21,8	pod LOD	19,9	pod LOD	31,2	104,2	14,43
Kompakt	kukuř.	bez orby	5,0	50,2	22,5	pod LOD	41,9	24,4	pod LOD	33,8	pod LOQ	15,16
Kompakt	kukuř.	disk 10 cm	9,6	31,1	41,4	14,6	49,5	15,9	pod LOD	27,2	pod LOD	12,72
Kompakt	pšen.oz.	orba 22 cm	34,9	39,8	41,3	15,1	pod LOD	19,9	pod LOD	27,3	pod LOQ	7,02
Kompakt	pšen.oz.	orba 15 cm	13,5	50,7	43,3	14,1	pod LOD	14,7	pod LOD	46,8	pod LOD	7,59
Kompakt	pšen.oz.	bez orby	5,6	19,8	31,5	8,2	pod LOQ	11,2	pod LOD	pod LOQ	pod LOQ	10,89
Kompakt	pšen.oz.	disk 10 cm	14,4	41,1	72,0	12,2	pod LOD	16,5	pod LOD	24,4	pod LOD	6,82
Kompakt	ječ.jar.	orba 22 cm	8,0	50,9	40,7	16,9	69,6	17,0	pod LOD	60,9	pod LOQ	10,96
Kompakt	ječ.jar.	orba 15 cm	11,8	50,6	49,1	11,8	34,3	20,5	pod LOD	48,2	116,5	10,76
Kompakt	ječ.jar.	bez orby	7,4	47,3	46,4	12,2	pod LOD	18,3	pod LOD	43,4	pod LOQ	9,73
Kompakt	ječ.jar.	disk 10 cm	8,8	47,6	40,0	pod LOD	65,4	15,8	pod LOD	44,3	pod LOD	10,56

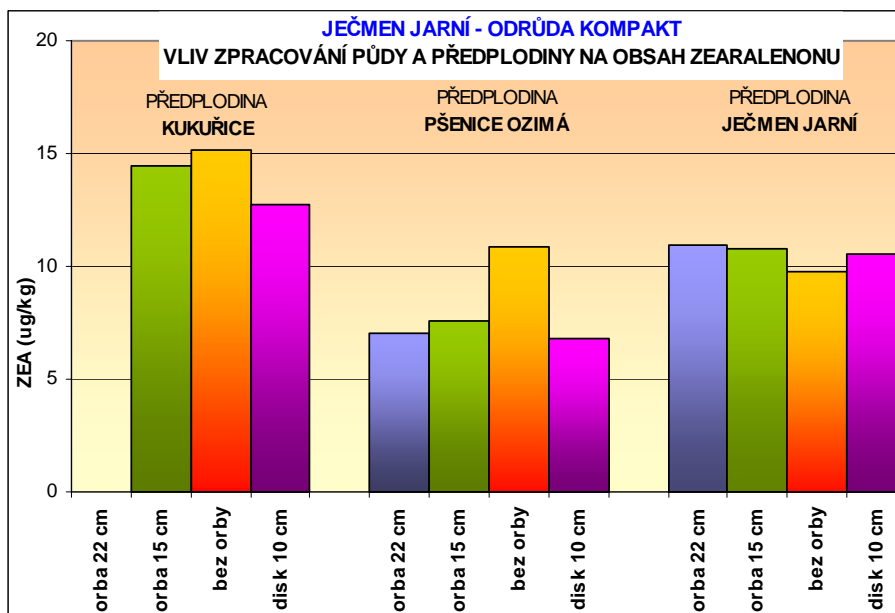
Obrázek 23. Spektrum sledovaných trichotheceů pro jednotlivé předplodiny a dané půdní ošetření – ječmen jarní, odrůda Kompakt



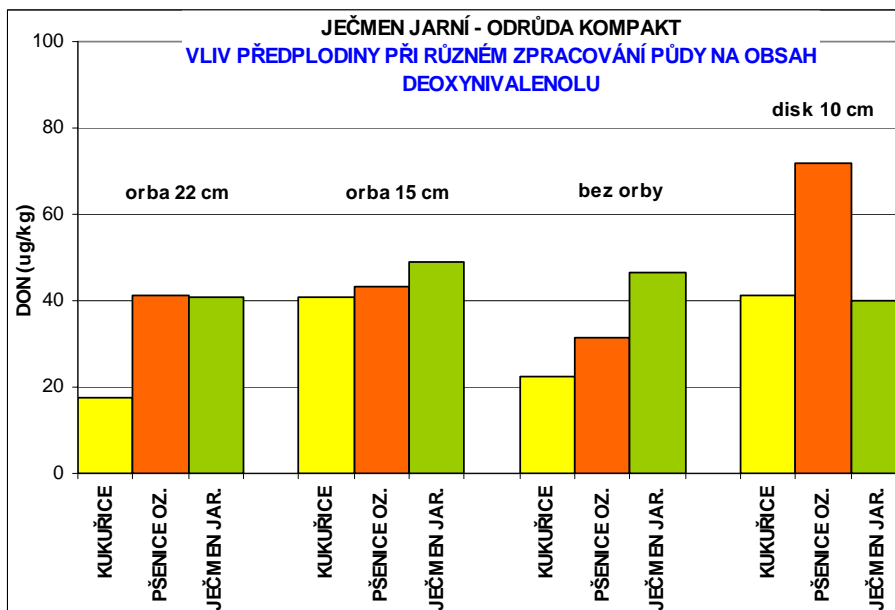
Obrázek 24. Vliv zpracování půdy a předplodiny na obsah DON – ječmen jarní, odrůda Kompakt



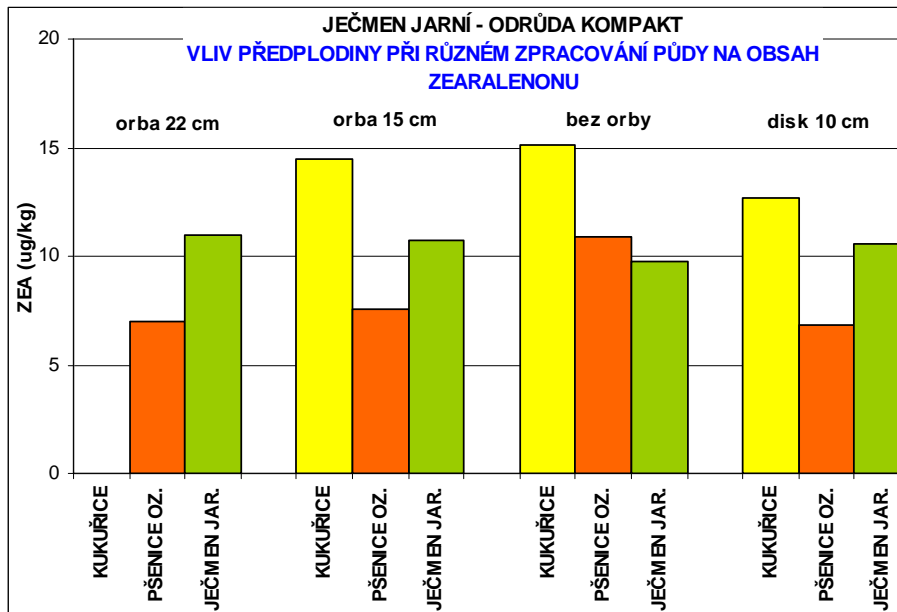
Obrázek 25. Vliv zpracování půdy a předplodiny na obsah ZEA – ječmen jarní, odrůda Kompakt



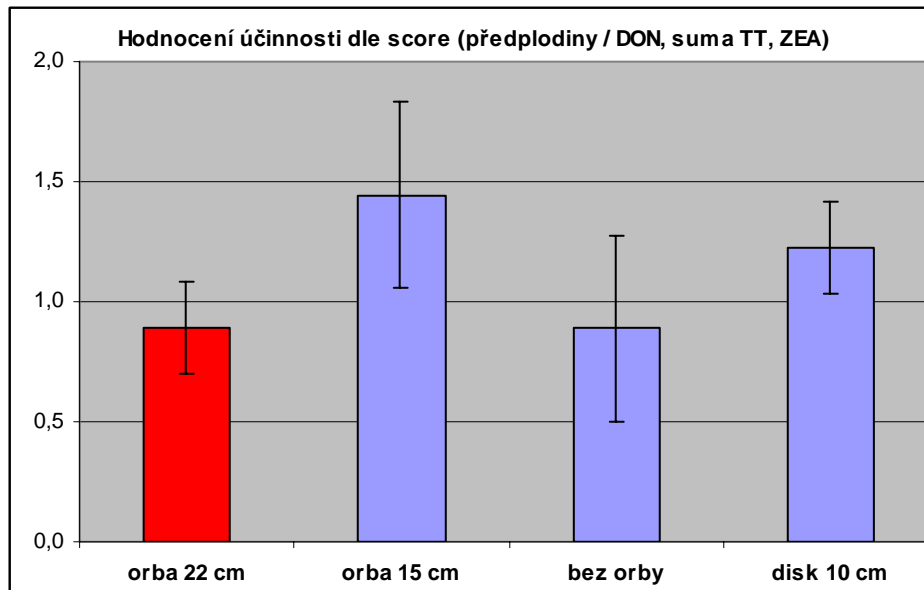
Obrázek 26. Vliv předplodiny při různém zpracování půdy na obsah DON – ječmen jarní, odrůda kompakt



Obrázek 27. Vliv předplodiny při různém zpracování půdy na obsah ZEA – ječmen jarní, odrůda Kompakt



Obrázek 28. Hodnocení účinnosti půdního ošetření na obsah fusáriových mykotoxinů dle přiřazeného score



Pozn.: score – 0=snížení hladiny mykotoxinu, 1= bez vlivu na hladinu mykotoxinu, 2=zvýšení hladiny mykotoxinu

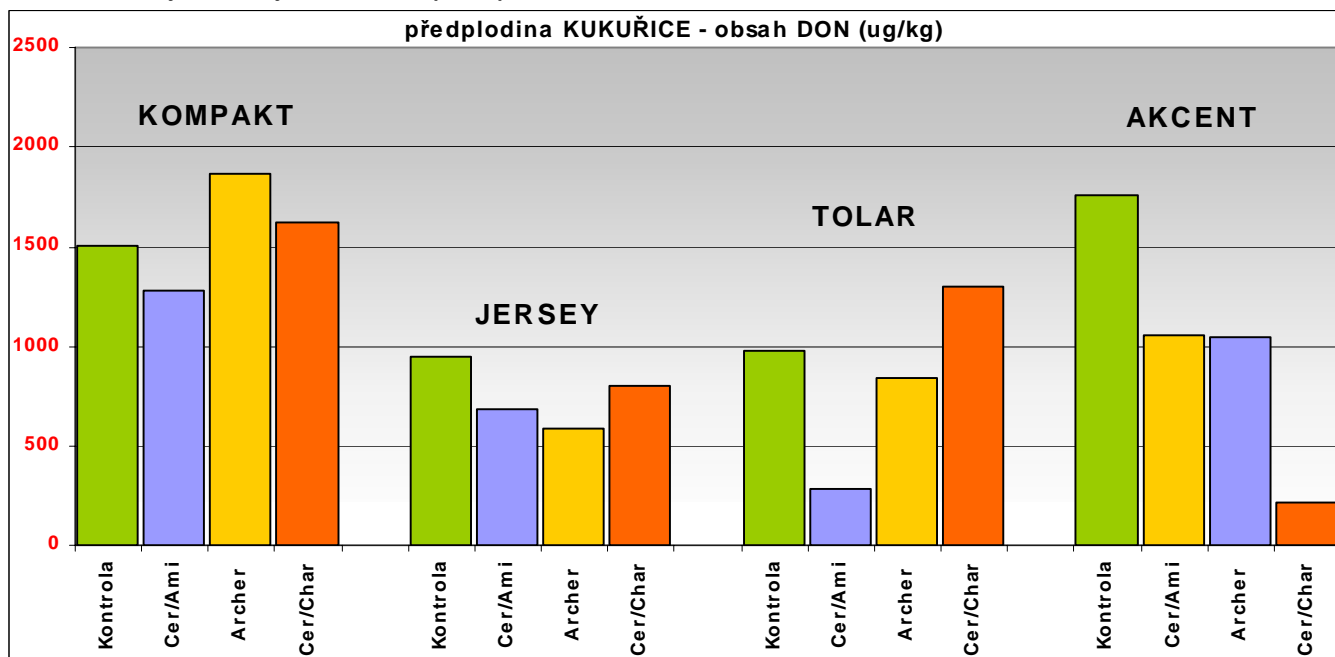
3.3. TESTOVÁNÍ ODOLNOSTI ODRŮD JEČMENE JARNÍHO VŮČI FUSÁRIOVÉ INFEKCI A POSOUZENÍ VLIVU FUNGICIDNÍHO OŠETŘENÍ A PŘEDPLODINY NA HLADINY MYKOTOXINŮ

Při testování odolnosti odrůd jarního ječmene vůči fusáriové infekci a posouzení účinnosti fungicidního ošetření a vlivu předplodiny byly realizovány experimenty s odrůdami KOMPAKT, JERSEY, TOLAR a AKCENT pěstovanými po předplodinách kukuřici nebo obilnině (pšenici). Nebyla provedena žádná cílená kontaminace vzorků fusáriovým inokulem. Aplikovány byly tři typy fungicidů :

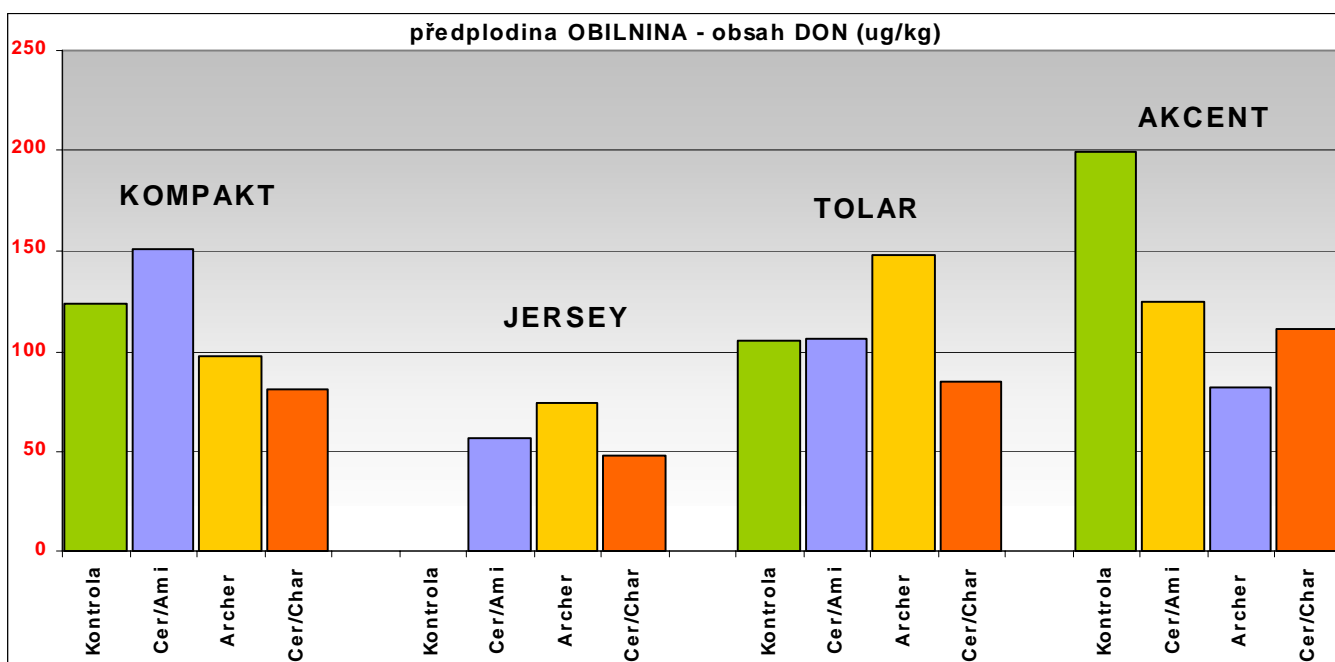
- i) Cerelux plus 0,6l (účinná složka fusiazole, aplikován 7.5.02)+ Amistar 0,6l (účinná složka azoxystrobin, aplikován 3.6.02),
- ii) Archer Top 1,0l (účinná složka propiconatole, aplikován 7.5.02),
- iii) Cerelux Plus 0,6l (účinná složka fusiazole, aplikován 7.5.02) + Charisma 1,0l (účinná složka famoxadone, aplikována 3.6.02).

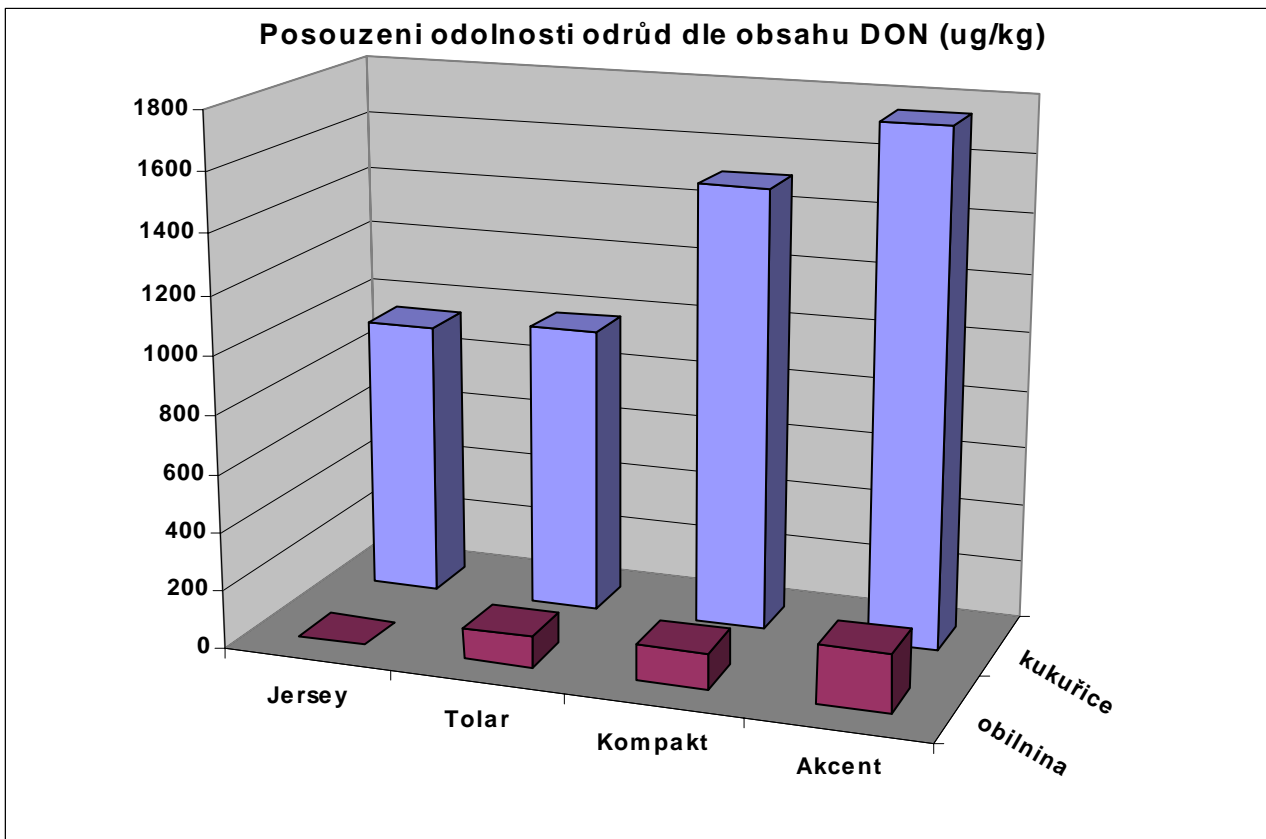
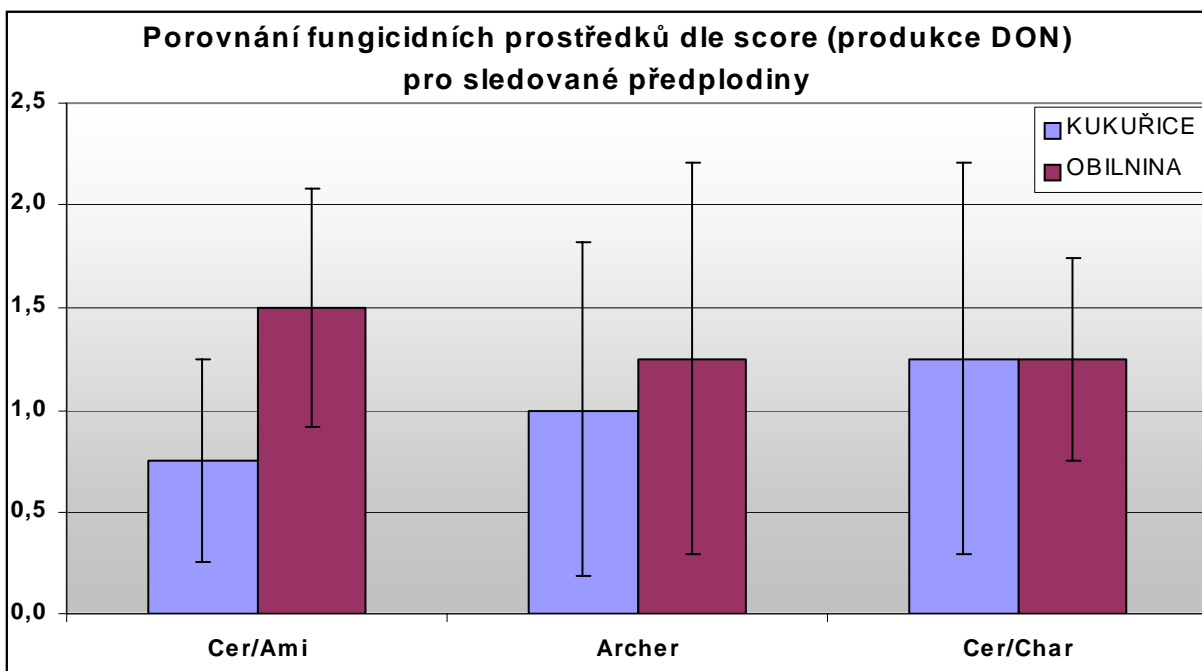
Po předplodině OBILNINA byly řádově nižší nálezy trichothečenů než po KUKUŘICI (viz. **Obrázek 29** a **30**). Dominantním trichothečenovým mykotoxinem kvantifikovaným ve vzorcích byl DON. Prokázána byla též přítomnost některých dalších trichothečenů a zearalenonu, vyskytovaly se však v pozadřových koncentracích (pod 0,1 mg/kg). Bylo možné konstatovat, že efekt aplikace fungicidních přípravků byl u testovaných odrůd ječmene velmi odlišný pokud jde o nálezy DON. Odrůdy JERSEY a TOLAR pěstované po obou předplodinách (kukuřice, obilnina) bylo možné označit za relativně více rezistentní (viz. **Obrázek 31**). Je však nutné zdůraznit, že žádný z fungicidních prostředků nebylo možné označit za stoprocentně účinný, tj. potlačující růst fusárií a potažmo produkci trichothečenů (viz. **Obrázek 32**). Zajímavé je, že tyto prostředky měly v daném kontextu opačný trend po předplodině kukuřici a obilnině. Mohl být tento trend způsoben rozdílnou produkcí mykotoxinů (liší se v řádu) po sledovaných předplodinách? Na základě jednoletých experimentů však nelze provést žádné obecné shrnutí a bylo by vhodné tyto experimenty zopakovat v příštích letech spolu v porovnání i s jinými vhodnějšími předplodinami (např. porovnání vlivu fungicidů na obsah mykotoxinů ve stejných odrůdách ječmene jarního pěstovaných po předplodinách řepka a obilnina).

Obrázek 29. Vliv ošetření různými typy fungicidních prostředků na hladinu DON u odrůd jarního ječmene – předplodina kukuřice



Obrázek 30. Vliv ošetření různými typy fungicidních prostředků na hladinu DON u odrůd jarního ječmene – předplodina obilnina



Obrázek 31. Posouzení odolnosti odrůd ječmene dle obsahu DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$)**Obrázek 32.** Porovnání vlivu fungicidního ošetření pro sledované předplodiny

Pozn.: score – 0=snížení hladiny mykotoxinu, 1= bez vlivu na hladinu mykotoxinu, 2=zvýšení hladiny mykotoxinu

3.4. SLEDOVÁNÍ VÝSKYTU TRICHOHECENOVÝCH A ALTERNARIOVÝCH MYKOTOXINŮ VE VZORCÍCH SILÁŽÍ

Pro výrobu siláže se využívá čerstvá píce o sušině 20 – 25 %, kukuřice o sušině do 30 %, zavadlé píce (oves) o suš. 33 – 35 %, jetelotrav o sušině až 38 – 45 %. Základními kroky silážování, po sklizení příslušné suroviny, jsou řezání hmoty, pečlivé udusání řezanky a včasné uzavření silážních prostor, tj. vytvoření anaerobních podmínek. Princip dosažení konzervace spočívá v dlouhodobé inhibici fyziologických a mikrobiálních pochodů snížením acidity prostředí, a to biologickým nebo chemickým způsobem (z hlediska krmivářsko-hygienického je používání chemických konzervantů nežádoucí). Základem biologického způsobu je snížení hodnoty pH kyselinou mléčnou (pH pod 4,2), která vzniká při kvašení píce jako produkt bakterií mléčného kvašení. Tyto bakterie jsou fakultativně anaerobní a ke svému rozvoji potřebují zkvasitelné sacharidy. K zastavení jejich růstu dochází při pH = 3,5. V siláži dále vzniká kyselina octová, která je produkována převážně nepravými mléčnými bakteriemi, končícími svoji činnost při pH = 4,5. V siláži bývají přítomny i kvasinky. Mezi nežádoucí mikroorganismy, které mohou být přítomny v silážích, řadíme hnilobné bakterie a plísňe, které jsou aerobní.

Popis analyzovaných siláží (získané v rámci spolupráce s Výzkumným ústavem pícninářským Troubsko, VUPT) je uveden v **Tabulce 14**. Vzorky byly analyzovány na obsah 9 trichothecenových a 3 alternariových mykotoxinů. Výsledky jsou uvedeny v **Tabulce 15**. Jako dominantní trichothecen přítomný ve všech analyzovaných vzorcích bylo možné označit deoxynivalenol, což svědčilo o převládající přítomnosti fusárií produkujících trichotheceny typu B (např. *F. graminearum.*, *F. culmorum* atd.). V době předkládání této zprávy však nebyly k dispozici výsledky mykologického rozboru, který je postupně prováděn ve VUPT. U jednoho vzorku (č.10 – cukrovské řízky) byla nalezena koncentrace DON překračující hygienický limit 2 mg/kg pro obilí, který udává Zákon o potravinách a tabákových výrobcích, Vyhláška 53/2002 Sb). V případě krmiv nejsou pro trichotheceny stanoveny v ČR žádné doporučené maximální hladiny DON ani ostatních fusáriových mykotoxinů.

Z alternariových mykotoxinů byl u všech vzorků identifikován alternariol (AOH) a alternariol monomethyl ether (AME). Pro alternariové mykotoxiny nejsou v ČR stanoveny žádné hygienické limity.

Tabulka 14. Seznam analyzovaných vzorků siláží

1.	vojtěšková siláž, barva hnědozelená, suchá, délka asi 5 cm, vůně charakteristická, pH = 5,98
2.	kukuřičná siláž, barva žlutohnědá, délka 1 cm, vůně kyselá, pH = 4,37
3.	kukuřičná siláž, barva hnědožlutá, délka 1 cm, vůně charakteristická, pH = 4,54
4.	vojtěšková siláž, barva hnědožlutá, suchá, délka 2 cm, vůně charakteristická, pH = 5,99
5.	cukrovarské řízky, barva bílošedá, vlhké, vůně kyselá, pH = 4,37
6.	travní siláž, barva hnědozelená, vůně charakteristická, délka 5 cm, pH = 4,86
7.	kukuřičná siláž, barva žlutohnědá, vůně kyselá, délka 2 cm, pH = 4,29
8.	travní siláž, barva hnědožlutá, vůně mírně kyselá, délka 5-10 cm, pH 5,11
9.	kukuřičná siláž, barva světlezelená, suchá, řezanka – 1 cm, vůně kyselá, pH = 4,73
10.	cukrovarské řízky, barva bílošedá, vlhké, charakteristická vůně, pH = 4,74
11.	travní siláž, barva světlezelená, suchá, vůně příjemná – senná, délka do 10 cm, pH = 5,3
12.	kukuřičná siláž, barva světlehnědá, vlhká, vůně kyselá, pH = 6,07
13.	GPS ječmen, barva žlutozelená, vlhký, vůně příjemná, charakteristická, pH = 4,47

Tabulka 15. Obsah ($\mu\text{g}/\text{kg}$) fusariových a alternariových mykotoxinů ve vzorcích siláže

	NIV	T-2 tetr	DON	FUS-X	15-ADON	3-ADON	DAS	HT-2 tox	T-2 tox	ZEA	ALT	AOH	AME
1	254,8	219,5	1270,6	pod LOD	pod LOD	pod LOD	pod LOD	487,7	pod LOD	54,1	pod LOD	28,0	54,2
2	240,3	184,5	999,5	pod LOD	pod LOD	327,1	pod LOD	431,6	pod LOD	44,7	pod LOD	29,6	107,8
3	pod LOD	pod LOD	781,4	pod LOD	494,3	pod LOD	pod LOD	pod LOD	pod LOD	13,1	pod LOD	58,6	106,1
4	pod LOD	475,2	1118,1	pod LOD	506,4	pod LOD	pod LOD	273,7	pod LOD	pod LOQ	pod LOD	91,5	145,4
5	pod LOD	pod LOD	465,7	pod LOD	393,3	pod LOD	pod LOD	pod LOD	pod LOD	13,9	pod LOD	45,3	121,6
6	pod LOD	456,5	749,6	pod LOD	398,0	pod LOD	pod LOD	pod LOD	pod LOD	pod LOD	pod LOD	45,6	93,1
7	pod LOD	329,0	823,3	pod LOD	760,6	pod LOD	pod LOD	539,8	635,6	pod LOQ	pod LOD	64,4	pod LOD
8	422,1	229,5	1125,7	pod LOD	pod LOD	pod LOD	pod LOD	pod LOD	pod LOD	110,1	pod LOD	120,0	11,0
9	pod LOD	pod LOD	1510,0	pod LOD	605,3	pod LOD	pod LOD	207,4	pod LOD	32,1	pod LOD	108,7	45,3
10	703,5	pod LOD	2266,4	pod LOD	1056,1	pod LOD	pod LOD	417,5	716,1	31,7	pod LOD	62,1	44,5
11	pod LOD	pod LOQ	pod LOQ	pod LOQ	pod LOQ	pod LOD	pod LOD	pod LOD	pod LOD	pod LOD	pod LOD	81,4	27,1
12	pod LOD	pod LOD	240,5	319,0	pod LOD	pod LOD	pod LOD	pod LOD	pod LOD	pod LOD	pod LOD	53,5	pod LOD
13	pod LOD	270,7	225,8	321,0	551,4	pod LOD	pod LOD	pod LOD	pod LOD	pod LOD	pod LOD	71,8	pod LOD
LOD	15	15	15	15	15	15	15	15	15	3	1,0	4,0	2,0

3.5. SLEDOVÁNÍ OBSAHU FUSÁRIOVÝCH MYKOTOXINŮ

NETRICHOTHECENOVÉHO TYPU (BEA, MON) VE VZORCÍCH HRACHU SETÉHO

Stanovení obsahu beauvericinu a moniliforminu bylo provedeno u vybraných vzorků hrachu setého, které byly cíleně inokulovány směsí *F. oxysporum* a *F. solani*. Tyto druhy řadíme mezi producenty trichothecenů typu A, tj. fusarenonu-X (FUS-X), diacetoxyscirpenolu (DAS), HT-2 toxinu (HT-2) a T-2 toxinu (T-2 tox.). Plísně k inokulaci byly vyizolovány ze vzorků půdy a rostlin, následně byly identifikovány a po té byl právě výše zmíněnými druhy v nádobách inokulován půdní substrát, na kterém byly hrachy pěstovány.

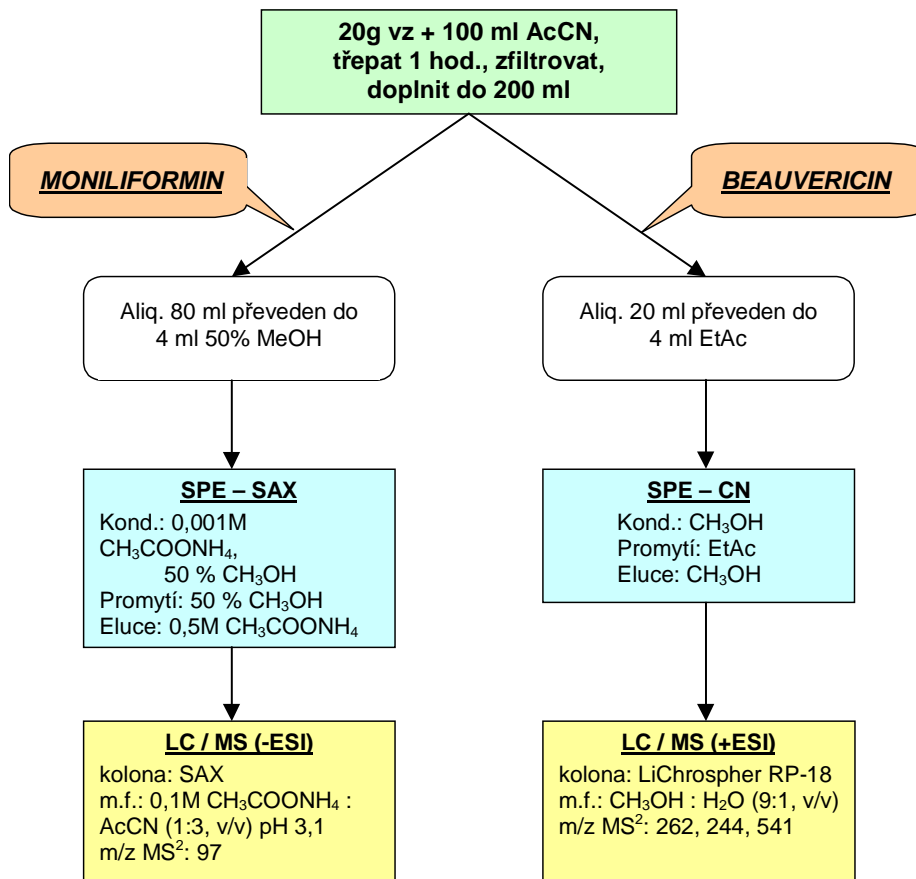
Schéma analytických metod použitých pro stanovení sledovaných analytů je uvedeno na **Obrázku 33**.

Vzorky hrachu (kořeny a rostliny) odebrané k analýze v zelené zralosti byly testovány na obsah beauvericinu i moniliforminu, viz. **Tabulka 16**. Moniliformin nebyl nalezen v žádném z vyšetřených vzorků a beauvericin pouze ve vzorcích kořenů v rozmezí 3 – 1600 µg/kg.

U stejných odrůd hrachu odebraných až v plné zralosti byl sledován už jen obsah beauvericinu (BEA), viz. **Tabulka 17**. Vyšší koncentrace BEA byly zjištěny především v kořenech, kde se hladina pohybovala mezi 100 – 2500 µg/kg. Naopak v rostlinách hrachu (suchá nať) v některých případech nebyl BEA detekován vůbec a jeho koncentrace se pohybovaly v rozmezí 5 – 150 µg/kg. Na základě těchto údajů je možné říci, že přechod BEA mezi kořenovým systémem a rostlinou je minimální (16:1).

Pro porovnání výše uvedených výsledků s přirozeným výskytem moniliforminu a beauvericinu byly odebrány vzorky ze souboru odrůd na provokačním poli (bez cílené kontaminace). Výsledky uvedené v **Tabulce 18** dokládají, že přirozený výskyt sledovaných mykotoxinů byl pouze ojedinělý (3 ze 14 vzorků).

Pro sledované mykotoxiny, BEA a MON, nejsou v ČR stanoveny žádné hygienické limity.

Obrázek 33. Schéma analytické metody – stanovení beavericinu a moniliforminu**Tabulka 16.** Hladiny netrichothecenových mykotoxinů rodu *Fusarium* ($\mu\text{g}/\text{kg}$) – plná zralost hrachu

Odruda	Beauvericin		Moniliformin	
	kořeny	zelené rostliny	kořeny	zelené rostliny
	$\mu\text{g}/\text{kg}$	$\mu\text{g}/\text{kg}$	$\mu\text{g}/\text{kg}$	$\mu\text{g}/\text{kg}$
Adept	128,7	<LOD	<LOD	<LOD
Alan	16,5	<LOD	<LOD	<LOD
Bohatýr	4,7	<LOD	<LOD	<LOD
DP 1059	34,1	<LOD	<LOD	<LOD
Janus	23,0	<LOD	<LOD	<LOD
Lantra	27,5	<LOD	<LOD	<LOD
Menhit	69,9	<LOD	<LOD	<LOD
Pegas	7,5	<LOD	<LOD	<LOD
Tyrkys	6,2	<LOD	<LOD	<LOD
Zekon	2,6	<LOD	<LOD	<LOD
Dark Skin Perfection	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Mini 93	59,6	<LOD	<LOD	<LOD
New Season	1602,9	122,5	<LOD	<LOD
Vantage	2,6	<LOD	<LOD	<LOD
	LOD	0,5	0,2	10
				5

Tabulka 17. Nálezy obsahu beauvericinu ($\mu\text{g}/\text{kg}$) – plná zralost hrachu

Odrůda	Množství beauvericinu ($\mu\text{g}/\text{kg}$)			
	Sušené rostliny	Kořeny	Lusky+semena	
Adept	63	145	<LOD	
Alan	11	287	<LOD	
Bohatýr	146	534	<LOD	
DP 1059	9	1642	<LOD	
Janus	17	1190	<LOD	
Lantra	<LOD	83	<LOD	
Menhir	4	73	<LOD	
Pegas	<LOD	121	<LOD	
Zekon	<LOQ	801	<LOD	
Dark Skin Perfection	<LOD	877	<LOD	
M 410	47	2322	<LOD	
Mini 93	68	2547	<LOD	
New Season	<LOD	1441	<LOD	
SN 5	63	909	<LOD	
Vantage	27	338	<LOD	
	LOD	0,6	0,8	0,1

Tabulka 18. Hladiny netrichothecenových mykotoxinů rodu *Fusarium* ($\mu\text{g}/\text{kg}$) – zelená zralost hrachu / provokační pole

	BEA	MON
Alan	<LOQ	<LOD
Canis	<LOD	<LOD
Carrera	<LOD	<LOD
Gotik	<LOD	<LOD
Grana	<LOD	<LOD
Merkur	<LOD	<LOD
Olivín	<LOD	<LOD
Pegas	<LOD	<LOD
Primus	2,9	<LOD
Profi	1,0	<LOD
Romeo	<LOQ	<LOD
Smaragd	<LOD	<LOD
Sonet	<LOD	<LOD
Tyrkys	2,5	<LOD
LOD	0,2	5

3.6. SLEDOVÁNÍ OBSAHU FUSÁRIOVÝCH MYKOTOXINŮ VE FILTRÁTECH MIKROSKOPICKÝCH VLÁKNITÝCH HUB

Izolace *Fusarium spp.* z polních podmínek (provedla firma Agritech s.r.o Šumperk) byla realizována přímým vyšetím drobných shluků půdních částic nebo roztroušením kousků napadených rostlinných tkání na půdy s mediem podle Komady a po třech dnech bylo provedeno oddělení jednotlivých konidií dle zabarvení a vzhledu. Po postupném

přečištění kultur, které trvalo zhruba měsíc, byly izoláty převedeny na rozlišovací media PSA a SNA a jednotlivé izoláty byly zhodnoceny mikroskopicky. Tyto izoláty byly dále napěstovány v tekutém mediu (filtráty) a zanalyzovány na obsah moniliforminu a beauvericinu, viz. **Tabulka 19**. Moniliformin nebyl nalezen v žádném z testovaných vzorků a beauvericin pouze u tří vzorků (dva izoláty *Fusarium oxysporum* a jeden *Fusarium semitectum*, oba tyto druhy řadíme mezi producenty moniliforminu a beauvericinu). Na základě identifikovaných druhů *Fusarium* v těchto filtrátech bylo provedeno také stanovení vybraných trichothecenových mykotoxinů. Byly nalezeny a kvantifikovány především trichotheceny typu B (NIV, DON) v koncentracích pohybujících se v průměru okolo 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a ostatní trichotheceny pouze ojediněle, viz. **Tabulka 20**.

Tabulka 19. Nálezy moniliforminu a beauvericinu ($\mu\text{g}/\text{kg}$) ve vzorcích filtrátů identifikovaných vláknitých hub

filtráty	původ	BEA	MON
FO 1/80	<i>Fusarium oxysporum</i>	421	<LOD
FO 1/194	<i>Fusarium oxysporum</i>	360	<LOD
FO 5/4	<i>Fusarium oxysporum</i>	<LOD	<LOD
FO 6/99	<i>Fusarium oxysporum</i>	<LOD	<LOD
FO 376	<i>Fusarium oxysporum</i>	<LOD	<LOD
FSMT	<i>Fusarium semitectum</i>	58	<LOD
FEQUI	<i>Fusarium equiseti</i>	<LOD	<LOD
TRICH	<i>Trichothecium roseum</i>	<LOD	<LOD
RHS	<i>Rhizoctonia solani</i>	<LOD	<LOD
PHMED	<i>Phoma medicaginis</i>	<LOD	<LOD
F. solani	<i>Fusarium solani</i>	<LOD	<LOD
Z/RA	blíže nespecifikováno	<LOD	<LOD
Z/RB	blíže nespecifikováno	<LOD	<LOD

LOD 5 100

Tabulka 20. Koncentrace trichothecenů ($\mu\text{g}/\text{kg}$) ve vzorcích filtrátů

filtráty	původ	DON	NIV	T-2 tetr.	FUS-X	15-ADON	3-ADON	DAS	HT-2 tox.	T-2 toxin
FO 1/80	<i>Fusarium oxysporum</i>	18,4	33,6	< LOD	< LOD	< LOD	< LOQ	951,9	< LOQ	< LOD
FO 1/194	<i>Fusarium oxysporum</i>	32,5	44,4	< LOD	< LOD	< LOD	< LOQ	1012,2	66,6	< LOD
FO 5/4	<i>Fusarium oxysporum</i>	26,7	< LOD	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD
FO 6/99	<i>Fusarium oxysporum</i>	33,3	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOD	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD
FO 376	<i>Fusarium oxysporum</i>	105,3	< LOD	< LOQ	18,7	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD
FSMT	<i>Fusarium semitectum</i>	< LOD	43,2	< LOD	< LOD	51,7	< LOD	< LOD	< LOD	9757,3
FEQUI	<i>Fusarium equiseti</i>	< LOQ	18,2	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOD
TRICH	<i>Trichothecium roseum</i>	17,6	52,6	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOQ
RHS	<i>Rhizoctonia solani</i>	125,1	< LOD	16,1	< LOD	< LOD	89,0	< LOD	< LOD	< LOD
PHMED	<i>Phoma medicaginis</i>	< LOD	35,6	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
F. solani	<i>Fusarium solani</i>	< LOQ	12,8	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOD	< LOD
2/RA	blíže nespecifikováno	< LOQ	17,4	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
2/RB	blíže nespecifikováno	159,6	571,6	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD

LOD 5 3 3 5 10 10 190 10 160

3.7. SLEDOVÁNÍ VÝSKYTU OCHRATOXINU A VE RŮZNÝCH TYPECH ROSTLINNÝCH MATRIC

Na obsah ochratoxinu A byly testovány různé typy matric, které byly dodány k analýze v rámci naší spolupráce se Zemědělským výzkumným ústavem v Kroměříži a Výzkumným ústavem pivovarským a sladařským na sledování výskytu mykotoxinů v potravinářských surovinách a produktech nebo je bylo možné zakoupit v obchodní síti, jsou uvedeny v **Tabulce 21**. K vyšetření vzorků byla použita mezinárodně validovaná metoda sestávající se z extrakce vzorků směsí acetonitril:voda (60:40, v/v), přečištění primárního extraktu metodou extrakce na tuhou fázi (SPE) na imunoafinitním sorbetu a identifikace/kvantifikace pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s fluorescenční detekcí (HPLC/FLD). Externí kontrola jakosti (správnost generovaných dat) byla zajištěna naší účastí na mezinárodním mezilaboratorním testu programu FAPAS (Food Analysis Performance Assessment Scheme), který je organizován britskou Central Science Laboratory (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, UK).

Pouze u několika z mnoha testovaných vzorků (hrachu, slunečnice a kukuřice) byl identifikován ochratoxin A na hladině pohybující se kolem meze stanovitelnosti (LOQ - 1 µg/kg pro cereálie) použité metody, tj. v rozsahu 0,8 – 1,5 µg/kg, viz. **Tabulka 22**. Ochratoxin A nebyl nalezen ani v jednom ze vzorků piva (LOQ 0,5 µg/kg), pouze v jednom vzorku sladu (1,8 µg/kg). Mezi cereáliemi, které byly pěstovány konvenčním nebo ekologickým způsobem, nebyl identifikován žádný pozitivní nález. Pouze u vzorku směsi krmného obilí byla nalezena poněkud vyšší hladina ochratoxinu A, pro tento typ vzorků však nejsou v České republice stanoveny žádné hygienické limity.

Tabulka 21. Seznam testovaných vzorků

Matrice	Typ	Odrůdy
cereálie	ječmen ozimý (ekologicky pěstovaný)	Luran, Babylone, Luxor, Tiffany, Marna
	ječmen jarní (ekologicky pěstovaný)	Amulet, Akcent, Kompakt, Forum, Viktor, Lumar, Olbram, Krona
	pšenice ozimá (ekologicky pěstovaný)	Amanta, Kontra, Alana, Ebi, Toner, Nela, Sida, Šárka, Brea, Estica
	ječmen ozimý (konvenčně pěstovaný)	Babylone, Luxor, Marna, Tiffany, Luran, Olbram, Krona, Kompakt, Samanta
mouka	pšeničná, žitná, rýžová	-
rýže	-	-
slad	český, bavorský, karamelový	-
pivo	Budvar, Gambrinus, Bráník, Radegast, Staropramen, Velkopopovický kozel,	-
koncentrát	hroznový	-
krmivo	směs krmného obilí	-
hrách		vyčištěný
slunečnice	NATIL	vyčištěná, propad pod sítem, hrubé nečistoty
kukuřice		-

Tabulka 22. Výskyt ochratoxinu A ve sledovaných vzorcích

Typ vzorku	Počet vzorků	Výskyt ochratoxinu A	
		negativní	pozitivní
ječmen ozimý (ekolog.)	5	5	0
ječmen jarní (ekolog.)	8	8	0
pšenice ozimá (ekolog.)	10	10	0
ječmen ozimý (konv.)	9	9	0
mouka	7	7	0
rýže	1	1	0
slad	6	5	1
pivo	6	6	0
koncentrát	1	1	0
krmivo	1	0	1 *
hrách	1	0	1
slunečnice	3	0	3
kukuřice	1	0	1

Pozn.: * nález 55,0 µg/kg krmné směsi

3.8. SLEDOVÁNÍ VÝSKYTU FUMONISINŮ V CEREÁLIÍCH

O této skupině rizikových metabolitů mikroskopických vláknitých hub rodu *Fusarium* nejsou v České republice dosud žádné informace. V roce 2002 byla na pracovišti VŠCHT provedena rozsáhlá rešerše dostupné odborné literatury se zaměřením na analytické metody stanovení těchto látek a byly zakoupeny standardní certifikované látky. V průběhu roku 2003 pak bude proveden vývoj analytické metody se zaměřením na optimalizaci analytické koncovky GC/MS.

4 ZÁVĚR

Pro praxi lze ze získaných výsledků lze usuzovat, že výše kontaminace vzorků je ovlivněna nejen odolností odrůdy vůči houbové infekci, přítomným rodem či chemotypem mikroskopické vláknité houby a významnou roli hrají především klimatické podmínky sledovaných regionů v průběhu vegetačních období jednotlivých let. V neposlední řadě k faktorům ovlivňujícím výskyt houbové infekce a potažmo produkci mykotoxinů řadíme také používané pěstební technologie (vhodnou volbou předplodiny, agrochemikálie, zpracování půdy atd.). Např. plodinu kukuřici bylo možné v diskutovaném kontextu označit jako méně nevhodnou předplodinu pro pěstování obilnin, jelikož po jejím sklizení zůstává na poli poměrně velké množství organických zbytků, které jsou vhodným substrátem pro přenos houbového mycelia.

Ze získaných dat je mimo jiné též patrné, že DON není vždy dominantním mykotoxinem obsaženým ve vzorcích kontaminovaných fusáriovými mykotoxiny. Nabízí se tedy otázka o vhodnosti používání tohoto trichothecenového mykotoxinu jako markeru pro sledování dodržování hygienických limitů resp. zdravotní nezávadnosti potravinářských surovin. Zvláště závažná v této souvislosti je i skutečnost, že akutní toxicita NIV oproti DON je více než dvojnásobná (dle LD₅₀ pro myš) a tak vzorek splňující hygienický limit pro DON může ve skutečnosti být za určitých okolností z hygienicko-toxikologického hlediska rizikový.

Protože jedním z hlavních faktorů ovlivňujících výskyt mykotoxinů v zemědělských plodinách jsou klimatické podmínky, je třeba na závěr podotknout, že velká část experimentů uvedených v této zprávě je pouze shrnutím jednoletých pokusů. Pro formulování obecných závěrů bude nutné provést víceleté polní pokusy tak, aby bylo možné lépe zohlednit vliv klimatických podmínek na produkci vybraných mykotoxinů.

Dále je nutné zdůraznit potřebu komplexního zhodnocení aplikace pesticidních, především fungicidních přípravků, ve vztahu nejenom k ochraně vlastních rostlin, ale i s přihlédnutím k hladinám mykotoxinů ve sklizených plodinách. Dosud realizované experimenty totiž jasně indikovaly rozdíly mezi různými typy přípravků a nebyly výjimkou případy, kdy došlo k nárůstu sekundárních škodlivin oproti kontrole. Příčinou tohoto zdánlivě paradoxního jevu je skutečnost, že za podmínek chemického „stresu“ mikroskopická vláknitá houba může produkovat vyšší hladiny toxických kometabolitů.