Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra veterinárních disciplín

Vliv mykotoxinů na reprodukci samců

Bakalářská práce

Autor práce:Tereza Uhlířová

Obor studia: ABPZ

Vedoucí práce: Ing. Kristýna Hošková, Ph.D.

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv mykotoxinů na reprodukci samců" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 20. 4. 2017 _____

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí své bakalářské práce Ing. Kristýně Hoškové Ph. D., za věnovaný čas a svému příteli Janu Vodičkovi za velikou trpělivost a podporu.

Vliv mykotoxinů na reprodukci samců

Souhrn

První část této práce je věnovaná tématu mykotoxiny, které patří mezi endokrinní disruptory - látky narušující zdraví organismu působením na žlázy s vnitřní sekrecí. Mykotoxiny jsou metabolity produkované toxigenními druhy plísní a patří mezi jedny z nejčastěji se vyskytujících přírodních kontaminantů. Svým chemicko - biologickým charakterem poškozují organismy napříč rostlinnou a živočišnou říší. Díky kolonizaci zemědělských rostlin, především kukuřice a obilovin, se dostávají do organismu hospodářských zvířat, kde negativně poškozují a narušují různé buněčné a regulační procesy. I přes jejich heterogenní působení jsou jim nejčastěji přisuzované karcinogenní, teratogenní a imunosupresivní účinky. Jedny z nejvýznamnějších mykotoxinů jsou aflatoxiny a v rámci fusariových mykotoxinů zearalenon a fumonisiny, kterým je v práci věnována větší pozornost.

Tyto metabolity, vzhledem ke své povaze, nejčastěji napadají reprodukční soustavu, jako jednu z nejcitlivějších orgánových soustav na působení těchto látek. V práci je podrobně popsána reprodukční soustava samců z anatomicko-fyziologického hlediska. Hlavní funkcí pohlavní soustavy je tvorba samčích pohlavních buněk, spermií, a jejich vpravení do reprodukčního traktu samice - spermatogeneze, zahrnující několik stádií, probíhá ve varlatech. Nezralé spermie jsou poté uloženy v nadvarleti, kde dozrávají. Spolu se sekrety přidatných pohlavních žláz putují při pohlavním aktu chámovodem, kam ústí do močové trubice. Pomocí pyje jsou pak uvolněny do kopulačního ústrojí samice. Hormonální řízení, zastoupené především hypotalamem a adenohypofýzou, má v reprodukčních procesech také významnou roli. Pohlavní soustava má nenahraditelnou funkci, protože jako jediná slouží k zachování druhu a není bezprostrostředně nutná pro život jedince.

Poslední část práce je zaměřená na účinky mykotoxinů v reprodukční soustavě samců. Mykotoxiny způsobují významné anatomické změny pohlavních orgánů. Zpravidla dochází k atrofii varlat, nadvarlat a dalších tkání. Dále je inhibovaná činnost regulačních mechanizmů, dochází k blokaci produkce testosteronu, může dojít k hyperestrogenismu. Působení mykotoxinů na samčí pohlavní buňky vyvolává různé patologické změny. Počáteční intoxikace spermií způsobuje abnormality strukturního a funkčního charakteru. Může

docházet ke ztrátě akrozomového váčku, spermie jsou méně pohyblivé, snižuje se jejich koncentrace v ejakulátu. V důsledku dlouhodobější expozice vyšších dávek mykotoxinů nastává apoptóza spermií. Tím obecně klesají zásoby pohlavních buněk a celkově se snižuje šance na úspěšné oplodnění a fyziologický embryonální vývoj. Což je jeden z nejdůležitějších negativních faktorů toxigenního působení těchto látek na reprodukci samců.

Klíčová slova: mykotoxiny, aflatoxin, fumonisin, zearalenon, reprodukce, samci

Influence of mycotoxins on reproduction of males

Summary

The first part of this work is about mycotoxins, which are among endocrine disruptors - substances that hinder the health of the body by acting on the endocrine glands. Mycotoxins are metabolites produced by toxigenic mold species and they are the most frequently occurring natural contaminants. Its chemical - biological character organisms, damaging other organisms throughout the plant and animal kingdoms. Due to the colonization of agricultural plants, especially maize and cereals, is brought into the body of livestock, which adversely harm and disrupt different cellular processes and control. Despite their heterogeneous effects are often attributed to them carcinogenic, teratogenic and immunosuppressive effects. One of the most important mycotoxins are aflatoxins and within Fusarium mycotoxin zearalenone and fumonisins, which are in this part also described in detail.

Furthermore, this work concerns the description of the male reproductive system. The main function of the reproductive system, is the formation of male gametes. Spermatogenesis, involving several stages and takes place in the testes. Immature sperm are then stored in the epididymis, where they mature. Together with secretions accessory sex glands travels in sexual vas, where they opens into the urethra. Using the penis are sperm then released into the female coupling mechanism. Hormonal control, represented mainly by the hypothalamus and anterior pituitary, reproductive processes has also an important role. Reproductive system has an irreplaceable function, because the only serves to maintain the species and is not directly required for the life of the individual.

The last part of this work is focused on the effects of mycotoxins in male reproductive system. These metabolites, due to their nature, most often infect the reproductive system, as one of the most sensitive organ systems to the action of these substances. Mycotoxins cause significant anatomical changes in genital organs. Typically, atrophy of the testes, epididymis, and other tissues. It is also inhibited the activity of regulatory mechanisms, there is a blocking testosterone production can occur hyperestrogenismu and apoptosis of many cells. Mycotoxin effect on male reproductive cells causes various pathological changes. The initial intoxication of sperm abnormality causes structural and functional character. Sperm may lose acrosome sac, they are less mobile, and also their concentration in the ejaculate are reducated. As a

result of prolonged exposure to higher doses of mycotoxin occurs sperm apoptosis. This generally declining inventories of gametes and generally reduces the chances of successful fertilization and healthy embryonic development. Which is one of the most important factors toxigenic effects of these substances on male reproduction.

Keywords: mycotoxins, aflatoxins, fumonisins, zearalenone, male reproduction

Obsah

1 Úvod **1**

2 Cíl práce **2**

3 Literární rešerše **3**

3.1 Mykotoxiny **3**

3.1.1 Rozdělení a definice mykotoxinů 3

3.1.2 Výskyt a působení mykotoxinů 4

3.1.3 Eliminace mykotoxinů 7

3.1.3 Aflatoxiny 8

3.1.4 Fusariové mykotoxiny 9

3.2 Reprodukční soustava samců **14**

3.2.1 Varlata 14

3.2.2 Nadvarlata 15

3.2.3 Chámovod 16

3.2.4 Šourek 16

3.2.5 Přidatné pohlavní žlázy 16

3.2.6 Pyj 18

3.2.7 Spermatogeneze 19

3.2.8 Hormonální řízení spermatogeneze 20

3.3 Vliv mykotoxinů na reprodukci samců **22**

3.3.1 Morfologicko - fyziologické změny orgánů a tkání 22

3.3.2 Vliv na hormonální soustavu 22

3.3.3 Účinky na spermatogenezi a fertilizační potenciál 23

4 Závěr **26**

5 Literatura **27**

1 Úvod

Na naší planetě existuje mnoho látek, ať už syntetického nebo přírodního charakteru, které v mnoha ohledech působí na člověka a jiné živočichy. Jejich výskyt může být pro organismy buď přínosný, anebo může na mnoha úrovních negativně ovlivňovat organismus. Řada těchto látek se stala předmětem odborných studií, jejichž snahou je získat o těchto látkách co nejširší povědomí, znát jejich strukturu, a především vědět co nejvíce informací o mechanizmu jejich působení. Mezi tyto látky, které jsou díky svému významu předmětem mnoha výzkumů, patří také endokrinní disruptory, látky narušující zdraví mnoha organismů působením na žlázy s vnitřní sekrecí. Jejich vliv je natolik významný, že je pro chovatele důležité znát co nejvíce informací o jejich fungování, a především vědět jakými metodami lze zabránit nebo alespoň omezit jejich negativní působení na organismy zvířat. Důležitá je především technologie zpracování, vhodné skladovací podmínky a celková kvalita plodin, jež jsou zkrmovány. V případě mykotoxinů je nejdůležitější redukce výskytu plísní v krmivu. U jiných endokrinních disruptorů jako je kupříkladu jetel, je zase podstatné při krmení sledovat koncentraci plodin s estrogenním působením, neboť tyto látky značně narušují procesy organismu, a to zejména v rámci reprodukční soustavy.

2 Cíl práce

Mykotoxiny jsou toxické látky vznikající jako produkty plísní kolonizující řadu plodin používaných jako krmivo pro zvířata. Účinky mykotoxinů v organismu se projevují v široké míře v reprodukční soustavě a v reprodukčních funkcích zvířat. Cílem práce je vypracovat ucelený literární přehled o vlivu vybraných mykotoxinů na reprodukční soustavu a reprodukční funkce u samců.

3 Literární rešerše

3.1 Mykotoxiny

Mykotoxiny patří mezi sekundární metabolity produkované plísněmi (Betina, 1990) a společně s mnoha dalšími látkami se také řadí mezi endokrinní disruptory, látky, které narušující zdraví organismu působením na žlázy s vnitřní sekrecí (Lee M, 2007). Endokrinní disruptory jsou rozděleny do dvou základních kategorií - na látky přírodní a syntetické. Syntetické disruptory se tradičně používají v chemickém průmyslu jako chemická mazadla, rozpouštědla, plasty, změkčovadla, pesticidy, fungicidy a farmaceutická činidla. Mezi přírodní disruptory patří mykotoxiny a fytoestrogeny, vyskytující se v rostlinách (Ünüvar, 2015). Tyto látky mohou svým působením napodobovat, zablokovat nebo modulovat syntézu, uvolňování, transport, metabolismus a vazbu nebo vyblokování přirozených hormonů. (Caserta et al., 2008). Svým působením tedy značně narušují procesy organismu, zejména v rámci reprodukční soustavy.

3.1.1 Rozdělení a definice mykotoxinů

Mykotoxiny jsou produkované toxigenními druhy plísní, které se vyskytují ve všech hlavních taxonomických skupinách hub. Mezi nejznámější rody produkující mykotoxiny patří rod *Aspergillus. Penicillium, Fusarium, Claviceps, Alternaria, Stachybotrys, Myrothecium, Phoma a Diploidia.* Je známo více než 300 mykotoxinů, které byli izolovány a chemicky charakterizovány. Jejich produkci zajišťuje přes 350 druhů hub (Betina, 1990; Jakic-Dimic et al., 2010). Tyto látky se vyskytují v myceliu, sporách nebo mohou být houbami přímo vylučovány do prostředí (Kalač a Míka, 1988). Je pravidlem, že různé rody stejného druhu plísní mohou produkovat víc než jeden strukturní typ mykotoxinů. Například v případě druhu *Aspergillus flavus* většina jeho toxigenních kmenů produkuje aflatoxiny, ale některé kmeny produkují i jiné typy toxinů (aflatrém, kyselina α-cyklopiazónová). Zároveň také ne všechny kmeny toxigenních druhů musí produkovat mykotoxiny. Existují mykotoxiny produkované více druhy stejného rodu anebo druhy, které patří do taxonomicky blízkých, nebo i vzdálených rodů.

Nesporným znakem mykotoxinů, jak již bylo dříve zmíněno, je skutečnost, že svými vlastnostmi patří mezi sekundární metabolity. Sekundární metabolismus zahrnuje především

syntetické procesy, jehož konečné produkty, tedy sekundární metabolity, nemají speciální význam pro daný organismus. Primární metabolismus je oproti tomu vzájemně provázaný souhrn chemických reakcí katalyzovaných enzymy, biosyntetickými meziprodukty a klíčovými makromolekulami, mezi které patří proteiny a DNA. Primární metabolismus je nezbytný pro všechny živé systémy, sekundární metabolismus se oproti tomu většinou omezuje na nižší formy života (Betina, 1990), které je nejspíše využívají kvůli svému přežití. Předpokládá se totiž, že úlohou mykotoxinů je eliminace konkurenčních mikroorganismů ve stejném prostředí. Díky svým účinkům na jiné organismy by měli také napomáhat parazitickým houbám při napadání hostitelských tkání (Brase et al., 2009).

Plísňové mytoxiny jsou velmi heterogenní skupinou látek, které je nejen těžké definovat, ale zároveň je také náročné je zařadit, a to kvůli jejich rozmanitým chemickým strukturám a biosyntetickým původům, díky jejich nesčetným biologickým účinkům, a vlivem jejich produkce prostřednictvím širokého množství různých druhů hub. Metabolity mykotoxinů lze tedy klasifikovat dle různých hledisek. Kupříkladu kliničtí lékaři často řadí mykotoxiny podle orgánů, které ovlivňují. Tím jsou tedy klasifikovány jako hepatotoxiny, nefrotoxiny, neurotoxiny, imunotoxiny, atd. Buněční biologové je dělí do druhových skupin, jako jsou teratogeny, mutageny, karcinogeny a alergeny. Organičtí chemici se je snaží klasifikovat podle jejich chemické struktury (laktony, kumariny). Biochemici vytvářejí skupiny podle jejich biosyntetické původu (polyketidy, odvozené od aminokyselin atd.). Žádná z těchto klasifikací není zcela uspokojivá. Stejná sloučenina může být umístěna v mnoha kategoriích. Aflatoxin, je například hepatotoxický, mutagenní a karcinogenní polyketid odvozený od toxinů rodu Aspergillus. (James, 1985). Díky jejich toxickému účinku patří například i mezi bojové látky a to od v 80. let minulého století, kdy íránští vědci kultivovali toxigenní kmeny *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus* a vytvořili více než 2300 litrů koncentrovaného toxinu k vyplnění hlavic jako součást jejich programu na výrobu biologických zbraní (Stone, 2002).

3.1.2 Výskyt a působení mykotoxinů

Plísně produkující mykotoxiny jsou v přirozeném prostředí velmi časté a mohou růst na širokém rozsahu substrátů, v širokém rozsahu podnebných podmínek. U zemědělských komodit se závažnost kontaminace plodin, v závislosti na počasí a dalších faktorech životního prostředí, mění z roku na rok. Aflatoxin se například často objevuje během roků sucha, kdy

jsou rostliny oslabeny a stávají se náchylnějšími k poškození a narušení jejich struktury, a tím zvyšují pravděpodobnost kolonizace těchto metabolitů (Dowd, 1998). Produkce mykotoxinů je tedy ovlivňovaná mnoha činiteli, které se dají rozdělit do skupin na fyzické faktory (např. relativní vlhkost, teplota a mechanické poškození), chemické faktory (vliv oxidu uhličitého, kyslíku, složení substrátu, insekticidů a fungicidů) a na biologické faktory (zahrnující kupříkladu stres, působení hmyzu, zatížení sporami) (Nesic et al., 2014). K hlavním problémům přítomnosti mykotoxinů způsobených přímo lidskou činností se řadí nedokonalá technologie sklízení, nedostatečné vysoušení, nevhodná manipulace, balení, skladování a špatné přepravní podmínky, což podporuje růst hub a tím zvyšuje riziko vzniku mykotoxinů (Rice et Ross, 1994). Mezi potraviny, které jsou často kontaminovány, patří nejen obiloviny, ale hlavně koření, ořechy, někdy i ovoce a další potraviny a výrobky z nich (RASFF, 2015).

Systém rychlého varování pro potraviny a krmiva (RASFF) uvádí, že výskyt mykotoxinů patří mezi největší rizika nezávadnosti potravin a krmiv. Podle poslední výroční zprávy z roku 2015 bylo hlášeno 476 případů výskytu mykotoxinů, což je o 62 případů více než v předchozím roce (zvýšení bylo způsobeno především vyšším výskytem aflatoxinů). Poněkud nadějnější vyhlídky jsou v případě krmiv, zde klesl výskyt mykotoxinů z 26 na 19 případů, což je za poslední 4 zmapovaná období nejnižší hodnota**.** Většina oznámení se týkají komodit a zemí původu, které jsou předmětem zvláštních kontrolních opatření, jedná se většinou o země mimo EU. Každý členský stát EU je povinen hlásit výskyt mykotoxinů RASFF komisi, která ihned obeznámí ostatní členské státy (RASFF, 2015).

	2012	2013	2014	2015
Mykotoxiny celkový vyskyt	446	368	357	476
Mykotoxiny v krmivu	79	37	26	19

Tab. 1: Případy výskytu mykotoxinů hlášených v rámci systému RASFF v letech 2012-2015 (RASFF, 2015).

K intoxikaci mykotoxiny dochází požitím, vdechnutím nebo skrze kůži. (Rice et Ross, 1994). Intoxikace pak může vyvolat akutní i dlouhodobé chronické účinky. Způsobené účinky mohou být buď teratogenní, karcinogenní a/nebo estrogenní a zároveň mohou mít

imunosupresivní vliv (Nesic et al., 2014). Nemoci, které mykotoxiny způsobují, jsou známé jako mykotoxikózy. Obecné diagnostické rysy mykotoxikóz jsou: onemocnění není přenosné; léčiva mají na onemocnění minimální nebo žádný vliv; ohniska bývají sezónní a jsou obvykle spojeny s konkrétními potravinami (Rice et Ross, 1994). Co se týče působení léčivých látek, jsou i zde jisté výjimky. V jedné studii byly popsány případy, kdy některé kmeny rodu *Lactobacillus* na sebe v kapalném médiu účinně vázali potravinové mykotoxiny, po několika dnech téměř s 90 % úspěšností navázání (El-Nezami, 2002). Příznaky mykotoxikóz závisí na druhu mykotoxinu, délce a intenzitě působení, věku, zdravotním stavu, pohlaví, a na mnoha synergicky působících jevech jako je genetika, výživový stav jedince a také na interakci s jiným toxickým působením. To znamená, že toxicita těchto látek může být umocněna faktory, jako jsou nedostatek vitaminů, kalorickou deprivací, užíváním alkoholu, infekčním onemocněním. Mykotoxikózy můžou zvýšit vnímavost vůči mikrobiálním onemocněním, zhoršit následky podvýživy a působit synergicky s dalšími toxiny (Calderone et Cihlar, 2002). A proto mohou kontaminovaná krmiva vyvolat nežádoucí účinky, i když koncentrace jednotlivých mykotoxinů nepřevyšují akceptovatelné hodnoty (Dersjant-li, 2009). Podle studie Streit et al. (2013) je kontaminace mykotoxiny v současnosti obvykle nízká, ovšem vlivem povětrnostních podmínek může dosáhnout vysokých hodnot po celém světě, a proto je zde na místě neustálé sledování a pokračování ve výzkumných pracích.

V živočišné produkci způsobují tyto toxické látky velké škody. Svým působením vyvolávají u hospodářských zvířat snížení přírůstků, pokles mléčné a masné produkce. U slepic snižují produkci vajec, vejce jsou menší, často mají slabou skořápku. Využitelnost krmiva klesá, nastává snížení plodnosti, může vniknout estrogenní syndrom, mykotické zmetání, někdy alergická reakce na plísně, snižuje se odolnost zvířat k infekci a invazi parazitů, vlivem negativního působení na imunitu dochází k zvýšenému výskytu onemocnění. Při příjmu větších dávek mykotoxinů se u hospodářských zvířat objevují mykotoxikózy, které často končí porážkou nebo přímo úhynem (Kalač a Míka, 1988; Nesic et al., 2014).

Ačkoliv mykotoxiny kolonizují primárně obiloviny, může jimi být kontaminováno také maso, mléko a vejce. Konzumace infikovaných potravin rostlinného i živočišného původu má samozřejmě přímé důsledky i pro lidi (Nesic et al., 2014). Z těchto důvodů je celosvětový výzkum zaměřen především na formy, které významně narušují zdraví lidí a zvířat. Vlivem toho je známo jen málo mykotoxinů, které mají praktické uplatnění (Jakic-Dimic et al., 2010).

3.1.3 Eliminace mykotoxinů

Metod, které mají zamezit působení mykotoxinů, anebo alespoň eliminovat jejich účinek, je mnoho. Tyto metody se běžně aplikují před sklizní, během sklizně a při zpracování. Kontrolované zemědělské postupy, silážní strategie, šlechtění proti škůdcům, šlechtění rostlin na houbovou rezistenci, fyzikálně – chemicko-biologické léčebné metody a genetické inženýrství se snaží zajistit nezávadnost zemědělských plodin. Ačkoliv správnými zemědělskými postupy lze docílit snížení kontaminace plísněmi a jejich metabolity na přípustnou úroveň (Wild et Gong, 2010), není vždy možné vzhledem k vysokým výrobním nákladům, zeměpisným polohám, či povaze výrobních systémů a náročným podmínkám docílit optimalizace zemědělských postupů (He et Zhou, 2010).

Metodami eliminace a detekce těchto metabolitů se zabývají různé vědecké oblasti. V případě genetiky je kladen důraz na rezistentní šlechtění k dosažení rovnováhy mezi rozvojem odolných plodin a udržením výnosu vysoce kvalitní produkce (Wild et Gong, 2010). Fyzikální a chemické kontroly přítomnosti mykotoxinů v plodinách se zabývají metodami třídění a flotace, extrakce rozpouštědlem, chemickou detoxikací, alkalizací (např. amoniak, hydroxid sodný a oxid siřičitý), oxidací (např. ozonu), ozařováním a pyrolýzou (He et Zhou, 2010).

V případě již kolonizovaných plodin se uplatňují různé detoxikační strategie snižující nebo odstraňující jejich toxické účinky. Tyto metody jsou nejen nezbytné pro zlepšení bezpečnosti potravin, ale zároveň předcházejí nebo alespoň snižují hospodářské ztráty (McKenzie et al. 1997). Důležitou informací je kupříkladu skutečnost, že přítomnost těchto toxigenních látek je podstatně vyšší u nezpracovaných zrn než u obilovin již připravených k lidské spotřebě. To naznačuje, že čištění a další postupy zpracovávání obilí po sklizni vedou k nižším koncentracím mykotoxinů v zrnech určených k lidské spotřebě. Vedlejší produkty (prach, slupky a další) vzniklé čištěním surového obilného zrna mohou obsahovat až 30 x vyšší koncentraci mykotoxinů, než byly měřené koncentrace těchto látek v celých nezpracovaných zrnech (EFSA, 2011). Různé zpracovatelské postupy mají na koncentraci plísňových toxinů velký vliv. Dalším takovým příkladem je extruze (zahřívání při vysokém tlaku), která je jednou z nejrychleji rostoucích technologií, a to díky mnoha výhodám ve srovnání s tradičními metodami. Kromě zvýšení kvality meziproduktů a konečných produktů, může také zlepšit bezpečnost potravin, protože má potenciál snižovat hladiny mykotoxinů

v cereáliích. Pomocí tohoto procesu se připravují různé cereálie, snacky a krmiva pro domácí zvířata (Cetin et Bullerman, 2005). Podle Ryu (1999) byly hladiny mykotoxinů v obilných potravinách díky extruzi významně sníženy. V případě kukuřičných výrobků došlo s tímto procesem dokonce ke snížení o 83 %.

Bohužel je eliminace těchto toxických metabolitů někdy spojena s dalšími riziky. Chemické látky zahrnující fungicidy dnes představují potenciální zdravotní a bezpečnostní rizika pro životní prostředí. Některé protiplísňové sloučeniny nejsou biologicky rozložitelné nebo mají dlouhou dobu rozpadu, mohou kontaminovat půdu a vodu. Jejich vliv na kvalitu potravin a lidské zdraví také není zanedbatelný (da Cruz Cabral et al, 2013). Delší chemická úprava zrn může vést k rozvoji rezistence mnoha kmenů hub. Při zvýšené koncentraci fungicidních látek dochází u potravinářských plodin ke zvýšení toxických reziduí. V současnosti jsou přijímány stále přísnější regulace pro využívání těchto látek z důvodu jejich potenciální toxicity (Liu et al., 2013). V průběhu posledních let je věnován větší zájem biologickým kontrolním metodám jako možným alternativám. Pro testování výskytu plísní a mykotoxinů v rostlinné produkci se kupříkladu využívají jílové minerály, rostlinné extrakty a mikroby (He et Zhou, 2010).

3.1.3 Aflatoxiny

Produkce aflatoxinů je zprostředkována rodem *Aspergilus*, jehož nejvýznamnějšími zástupci jsou *Aspergillus flavus*, který produkuje aflatoxiny B1 a B2 a *Aspergillus parasiticus*, mezi jehož hlavní metabolity patří aflatoxiny B1, B2, G1, G2. Jejich společnými vedlejšími produkty pak jsou aflatoxiny M1, M2, které zároveň mohou být u zvířat syntetizovány jako hydroxylované metabolity B aflatoxinů. Aflatoxin B1 má nejsilnější karcinogenitu nejen mezi aflatoxiny, ale také mezi všemi ostatními přirozeně se vyskytujícími toxiny (Wu, 2015).

Kontaminace plodin aflatoxiny představuje v rámci mykotoxinů nejzávažnější problém po celém světě (Strosnider, 2006). V EU v roce 2015 souviselo nejvíce oznámení na přítomnost mykotoxinů v potravinách právě s výskytem aflatoxinů, jednalo se téměř o 90 % zastoupení. I v případě kontaminovaných krmiv se 17 oznámení z 19 týkalo přímo aflatoxinů (RASFF report, 2015).

B aflatoxiny pocházející od *Aspergillus flavus* se koncentrují většinou v nadzemní části rostlin (listy, květy). *Aspergillus parasiticus* produkuje B a G aflatoxiny, které jsou naproti tomu více přizpůsobeny k půdnímu prostředí s omezenou distribucí. Nejvýznamnější zástupci hub z rodu aflatoxinů se primárně vyskytují v horkém a vlhkém podnebí (EFSA, 2007). Nejvíce jsou jimi zasaženy plodiny jako je kukuřice, arašídy, pistácie ořechy a rýže, jež jsou běžně pěstovány v tropických a subtropických oblastech, vlivem toho dochází k velkým ekonomickým ztrátám (Wu, 2015). Tyto mikroskopické houby se nejčastěji vyskytují v jižní Evropě, Africe, jižní a jihovýchodní Asii (více než 30% výskyt v pozitivních vzorcích na mykotoxiny) (Marquardt, 2015).

Aflatoxiny jsou velmi stabilní, mohou odolávat procesům jako je pražení, pečení a extruze. Z tohoto důvodu může být problém jejich výskytu ve zpracovaných potravinách, například v pražených ořeších a pekařských výrobcích (Marin, 2013). Už po desetiletí je znám účinek působení aflatoxinu B1 na játra lidí a dalších živočišných druhů. Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny klasifikovala přirozeně se vyskytující směsi aflatoxinů jako hlavní příčinu pro vznik karcinogenu u lidí. (IARC, 2002). Toxigenita aflatoxinu je velmi vysoká, předpokládá se, že až několik miliard lidí je dnes ohroženo rakovinou jater vlivem jejich působení, a to především v rozvojových zemích (Strosnider, 2006).

Na produkci aflatoxinů působí inhibitory, které jsou rozděleny do mnoha skupin. V rámci základního řazení se dělí na přírodní látky a syntetické sloučeniny, jako jsou pesticidy. Inhibitory aflatoxinů na bázi rostlinných látek jsou děleny do skupin na alkaloidy, fenylpropanoidy, flavonoidy, taninové látky, peroxidační produkty nenasycených mastných kyselin atd. (Holmes et al., 2008). Karcinogenní působení aflatoxinů může být zmírněno také sloučeninami vyskytujícími se v brukvovité zelenině, cibuli a česneku. Klinické studie, které využívaly látky obsažené v růžičkách brokolice, též potvrdily jejich příznivé působení proti účinkům tohoto toxinu (Kensler et al., 2011). Další látkou, která zabraňuje či zmenšuje toxické účinky aflatoxinu a patří mezi přirozené složky zeleniny, je derivát chlorofylu, chlorofylin. (Dashwood et al., 1998).

3.1.4 Fusariové mykotoxiny

Rod *Fusarium* je jedním z hospodářsky nejvýznamnějších rodů fytopatogenních hub. Mnoho druhů z tohoto rodu může běžně kolonizovat obiloviny jako je pšenice, ječmen, oves a

kukuřice. Převládající výskyt jednotlivých rodů se liší v závislosti na druhu plodiny, zeměpisné oblasti a možnostech daného prostředí (Van der Lee et al., 2015). Nejčastěji vyskytující se fusariové toxiny v potravinách jsou fumonisiny, trichoteceny, zearalenon. Tyto mykotoxiny lze nalézt samostatně nebo společně. Podobně jako aflatoxiny se i fusariové mykotoxiny vyskytují v obilovinách a v potravinách z nich vyráběných. Toxicita těchto metabolitů působí akutně i chronicky a je prokázáno, že u zvířat vyvolává širokou škálu negativních účinků (Placinta et al., 1999).

Fumonisiny

Fumonisinové mykotoxiny jsou tvořeny druhy plísní z rodu *Fusarium*. Podle Rheedera et al. (2002) produkuje 15 rodů *Fusarii* toxické fumonisiny, z toho osm patří konkrétně do rodu *Liseola*, kam jsou zařazeny i dva nejdůležitější zástupci *Fusarium verticillioides* (syn. *Fusarium moniliforme*) a *Fusarium proliferatum* (EFSA, 2005). Fusariové mykotoxiny jsou rozděleny do čtyř hlavních skupin na toxiny A, B, C a P. Podobně jako u aflatoxinů představují nejzávažnější problém B fumonisiny (Rheeder et al, 2002). Z toxikologického hlediska je fumonisin B1 (FB1) nejdůležitější. Chemický název tohoto mykotoxinu je kyselina 1,2,3-propantrikarboxylová. Ve srovnání s výskytem ostatních fumonisinů má fumonisin B1 70 až 80 % zastoupení (Szécsi et al., 2010).

Fumonisiny patří do skupiny mykotoxinů se silnou strukturální podobností s prekurzorem sfingolipidů sfinganinem. Vlivem toho fusáriové mykotoxiny, a to zejména FB1, silně ovlivňují sfingolipidový metabolismus (Norred et al., 1992). Jejich účinky způsobují blokaci sfingolipidů a tím narušují činnosti membránových proteinů, které jsou na jejich řízení závislé. Sfingolipidové meziprodukty, které se poté v organismu kumulují, patří mezi vysoce cytotoxické sloučeniny. Zapojení sfingolipidů do různých aspektů buněčné regulace, může vést při narušení jejich metabolismu k toxickému a karcinogennímu účinku (Smith et al, 2002). Je také prokázáno, že fumonisin B1 inhibuje i jiné intracelulární enzymy. Omezuje například metabolismus bílkovin, a působí na tvorbu močoviny. (Schroeder et al., 1994). Celkově lze říci, že tento mykotoxin narušuje a patologicky ovlivňuje normální buněčný cyklus (Ramljak et al., 2000). Přítomnost fumonisinů v organismu má také za následek hemodynamické změny, které jsou kupříkladu považovány za příčiny patogeneze, jak leukoencefalomalácie u koní, tak prasečího plicního edému (EFSA 2005). Mnoho toxických syndromů je spojeno s působením fumonisinů, často jimi bývají poškozeny například játra a

ledviny. Relativně odolným druhem vůči toxickým účinkům B1 toxinu je drůbež (Bermudez et al., 1995).

Tyto metabolity jsou nejzávažnějšími mykotoxiny vyskytujícími se v kukuřici. Jejich působení je zintenzivněno teplými klimatickými podmínkami. *F. verticillioides* a *F. proliferatum* dokážou poměrně dobře přežívat v širokém rozsahu teplot, ale pouze ve spojitosti s vyšší vzdušnou vlhkostí (EFSA, 2005). Kolonizace *Fusárií* a jejich mykotoxinů je tedy velmi ovlivněna působením vody, teploty a složením atmosféry, zároveň jsou důležité i nutriční faktory, jako je složení jádra endospermu a zdroje dusíku (Chulze, 2010). Dalším faktorem, ovlivňujícím přítomnost fumonisinů v klasu, je fáze zrání jader, která pomocí fyzikálně-chemických faktorů měnících se průběhu zrání, ovlivňuje přítomnost těchto metabolitů. Na zvýšený výskyt *Fusárií* mají také vliv škůdci, neboť svou činností poškozují rostliny, které pak mykotoxiny mnohem lépe kolonizují (Betz et al., 2000). Fumonisiny jsou poměrně tepelně stabilní, jejich toxický účinek se snižuje až v průběhu procesu, ve kterém teplota přesáhla 150 °C. (EFSA, 2005). Nejvyšší výskyt kontaminace fumonisinu (více než 50 % pozitivních vzorků) byl zkoumán v Jižní Americe, jižní Evropě, Africe, severní a jižní a jihovýchodní Asii (Marquardt, 2015).

Zearalenon

Zearalenon a jeho deriváty jsou makrocyklické sekundární metabolity hub. (Betina, 1990). Jedná se o mykotoxin, který se může vyskytovat ve formě čtyř hydroxylových derivátů (Placinta et al., 1999). Je produkován především těmito houbovými druhy: *F. graminearum, F. culmorum, F. cerealis, F. equiseti a F. semitectum* (Glenn, 2007). Jeho nejvýznamnějšími metabolity jsou alfa-zearalenol a beta-zearalenol. Oba dva patří mezi nejvíce všudypřítomné mykotoxiny ve zvířecích krmivech (Wielogórska et al., 2014).

V současnosti je zearalenon předmětem velkého zájmu, protože i přes jeho nízkou akutní toxicitu, se ukázalo, že má hepatotoxický, imunotoxický a karcinogenní účinek na mnoho savčích druhů (EFSA, 2011). Spolu se svými metabolity má zearalenon strukturní podobnost s estradiolem, čímž dokáže podstatně narušit reprodukční funkce zvířat. (Wielogórska et al., 2014). Spolu se svými deriváty se kompetitivně váže na estrogenní receptory, a je odpovědný i mimo jiné za hyper-estrogenismus a neplodnost hospodářských zvířat (Cortinovis et al., 2013). Biologická aktivita zearalenonu je multispecifická. Koncept

multispecifičnosti je používán, v mnoha kontextech v molekulární a buněčné biologii, k označení toho, že jedna molekula zearalenonu může mít více než jeden biologický cíl nebo může sloužit jako substrát pro mnoho biotransformačních chemických látek do tkání a buněk (Gajecka et al., 2015). U prasat a pravděpodobně i u lidí je zearalenon po pozření rychle adsorbován a poté ve střevních buňkách metabolizován. Zde je degradován na alfa-zearalenol, beta-zearalenol, alfa-zearalanol a beta-zearalanol. Pokud následně dojde ke konjugaci s glukuronovou kyselinou a sulfáty, jsou pak tyto deriváty vylučovány močí a trusem (JECFA, 2000; Svobodová a kol., 2008). Po vniknutí do organismu je zearalenon schopen, díky své podobnosti s estradiolem, pasivně pronikat buněčnou stěnou do estrogenového receptoru nacházejícího se v cytosolu. Komplex receptoru a zearalenonu se rychle přenese do jádra, kde se naváže na „estrogen response element“, čímž se aktivuje transkripce genu (Riley, 1998). V organismech existují dva typy estrogenních receptorů, a to ER-alfa a ER-beta. Oba dva receptory jsou v těle rozmístěny nerovnoměrně. In vitro studie prokázaly, že se 17 β-estradiol a zearalenon chovají při navázání na ER-alfa jako konkurenční agonisté a v případě ER-beta buď jako agonisté nebo antagonisté (Kuiper et al., 1998).

Zearalenon tedy vlivem svého strukturního charakteru vykazuje estrogenní aktivitu a podílí se na mnoha mykotoxických onemocnění hospodářských zvířat. Na jeho účinky bývají mnohem citlivější prepubertální zvířata než starší jedinci. Nejvíce vnímavým druhem hospodářských zvířat jsou prasata (D'Mello et al., 1999). Citlivost zvířat na zearalenon se liší také podle typu působícího mykotoxinu. Metabolit zearalenonu, Alfa - zearalenol nejvíce poškozuje prasata, zatímco u jiných živočišných druhů včetně brojlerů, skotu a ovcí, je hlavním škodlivým metabolitem zearalenonu beta-zearalenol s mnohem nižší metabolickou aktivitou (Gajęcka et al., 2013). Obecně zearalenon způsobuje změny v hmotnosti nadledvin, štítné žlázy, hypofýzy, mění hladiny progesteronu a estradiolu v organismu. V rámci reprodukční soustavy jsou na účinky zearalenonu více vnímavé samice. Může u nich způsobit rozšíření dělohy, rektální a vaginální výhřez, potraty a neplodnost. (JECFA 2000).

Významné problémy způsobuje zearalenon také u žen. Jeho přítomnost v endometriální tkáni, může být doprovázena endometriálními adenokarcinomy, hyperplasií a proliferativní endometriozou (Tomaszewski et al., 1998). Studie v poslední době také naznačují, že má potenciál v lidském těle stimulovat růst rakovinných buněk, konkrétně v prsu (Nesic et al., 2014). Zearalenon se z pravidla rychle biotransformuje a je brzy vyloučen spolu s výkaly. Proto má jeho výskyt v mase a masných výrobcích pravděpodobně jen malý

význam (Creppy 2002). I jeho přítomnost v kravském mléce je minimální, neboť je podmíněna vysokou koncentrací v podávaném krmivu (JECFA 2000). Hlavními zdroji kontaminace pro lidi zůstávají obiloviny, především kukuřice a její výrobky, pšenice a pšeničné produkty, žito a oves (Minervini et al., 2005). I rostlinné oleje, zejména kukuřičný olej z klíčků a olej z pšeničných klíčků, také významně přispívají k expozici zearalenonu (EFSA,2011).

Fusáriové plísně produkující zearalenon jsou obvykle spojeny s chladnějším a hodně deštivým vegetačním obdobím (Munkvold, 2003). Pro tvorbu zearalenonu jsou nejvíce příznivé teploty pohybující se mezi 12 a 14 °C, k produkci však může docházet také při teplotách nižších než 10 °C, a dokonce i výjimečně v případě, kdy teploty klesnou pod bod mrazu (Weidenbörner, 2001). I když je zearalenon primárně polní kontaminant, k jeho produkci může dojít také při špatných skladovacích podmínkách (EFSA, 2011). Alfa-zearalenol a beta-zearalenol se mohou vyskytovat v kukuřici a produktech z ní vyráběných, včetně kukuřičné siláže. V malé míře byl zearalenon detekován i v sójových potravinách (Schollenberger et al. 2006) a také v pěstované rýži (Zinedine et al., 2007). Nejvyšší míra kontaminace zearalenonu (více než 30 % výskyt pozitivních vzorků na obsah mykotoxinů) byla nalezena v Severní a Jižní Americe, ve střední Evropě, Africe a severní a jihovýchodní Asii (Marquardt, 2015).

V rámci detoxikace se studují účinky různých látek, které by mohly zvýšit ochranu organismu proti mykotoxinům. Jedním z nich je i cholestyramin, látka snižující cholesterol v krvi. Cholestyramin byl testován a potvrzen jako ochranný prostředek proti mykotoxinům. Spolu s aktivním uhlím je vhodným kandidátem pro detoxikaci zearalenonu a může být použit jako doplňková látka, zabraňující hyperestrogenismu u prasat (Avantaggiato et al., 2003). Mokoena et al. (2005) uvádí, že bakterie mléčného kvašení mohou výrazně snížit koncentraci zearalenonu v kukuřici, po čtyřech dnech fermentace až o 68-75 %. Nicméně toto snížení nemusí významně měnit možné toxické účinky. V průběhu tepelného zpracovávání je zearalenon velmi stabilní. Výjimkou, při které může dojít k jeho rozložení, bývá alkalické prostředí a zahřívání při vysokém tlaku tzv. extruze (EFSA, 2011).

3.2 Reprodukční soustava samců

Hlavní funkcí pohlavní soustavy samců je tvorba samčích pohlavních buněk, a jejich vpravení do pohlavních cest samice. K samčím pohlavním orgánům patří varlata, nadvarlata, chámovody, přídatné pohlavní žlázy a pářící orgán – pyj. Pohlavní soustava je jediná orgánová soustava, která slouží k zachování druhu, i když není bezprostředně potřebná pro život jedince (Sova a kol., 1981).

3.2.1 Varlata

Varle (testis) je párová samčí pohlavní žláza tuhoelastické konzistence (Marvan a kol., 2011). Probíhá zde produkce spermií a zároveň tvorba samčího pohlavního hormonu – testosteronu působícího na vznik pohlaví a sexuální diferenciaci (Jelínek a kol., 2003). Varle má vejčitý, ze stran mírně zploštělý tvar a v závislosti na druhu různou velikost a hmotnost (Marvan a kol., 2011). U zvířat s periodickou pohlavní činností se varlata zvětšují v období pohlavní aktivity. Ve stáří pak podléhají atrofii a zmenšují se (Najbrt a kol., 1982). Tyto žlázy jsou uloženy v šourku, jejich poloha je však druhově odlišná a podmiňuje i různé utváření šourku (Marvan a kol., 2011). Varlata se vyvíjejí na stropě břišní dutiny savce a před nebo po narození sestupují do šourku. (Jelínek a kol., 2003). Na varleti popisujeme, vzhledem k uložení nadvarlete, dva konce, a to hlavový konec a ocasní konec, které spojuje nadvarletní okraj, po němž postupuje tělo nadvarlete. Proti nadvarletnímu okraji je volný okraj (Najbrt a kol., 1982). Povrch varlete je krytý tenkou serózní blankou. Pod ní se nachází bělavý obal, vytvářející pevné pouzdro křehkého parenchymu varlete. Bělavý obal je silná vrstva hustého kolageního vaziva s bohatě rozvětvenými krevními cévami, které prosvítají přes tenkou serózu (Marvan a kol., 2011). Z bělavé blány vycházejí do nitra parenchymu vazivové přepážky rozdělující parenchym na menší úseky a zajišťující ochranu a integritu parenchymatózní tkáně (Reece, 2011). Přepážkami varlete je parenchym rozdělen na velký počet lalůčků varlete, které mají jehlanovitý tvar se základnou při povrchu varlete (Najbrt a kol., 1982). Parenchym lalůčku se skládá z 2 – 4 stočených semenotvorných kanálků, které začínají slepě při periferii lalůčku, mají silně zvlněný průběh a při vrcholu se spojují v krátký a úzký přímý kanálek, jímž začínají vývodné cesty varlete (Marvan a kol., 2011).

Vazivový obal varlat tvoří přepážky, v kterých se nacházejí lalůčky se semenotvornými kanálky, zde probíhají jednotlivé fáze ontogeneze (Jelínek a kol., 2003).

Mimo různá vývojová stádia spermií jsou ve varleti další dva důležité typy buňek, a to Sertoliho buňky (podpurné) a Leydigovy buňky (intersticiální). Sertoliho buňky poskytují ochranu a výživu vyvíjejícím se spermiím. Výběžky Sertoliho buněk obklopují spermatidy a spermatocyty a zajišťují intimní kontakt mezi všemi vývojovými stadii spermií (Reece, 2011). Sertoliho buňky jsou velmi důležité pro celý proces spermatogeneze od péče o kmenové buňky až po konečný proces spermiogeneze. Nedávné studie ukázaly, že odstranění jednoho proteinu ze Sertoliho buněk povede ke ztrátě všech typů zárodečných buněk ve varlatech. Jak FSH, tak činnost androgenů, regulují spermatogenezi pravě přes Sertoliho buňky (Papaioannou et al., 2009). Ve vmezeřeném vazivu mezi stočenými semenotvornými kanálky jsou také Leydigovy buňky, které jsou bohaté na agranulární endoplazmatické retikulum, zde je produkován samčí pohlavní hormon testosteron (Jelínek a kol., 2003).

3.2.2 Nadvarlata

Nadvarle (*epididymis*) je orgán vytvořený nahloučením kliček vývodných kanálků varlete a kliček vývodu nadvarlete. Nadvarle se skládá z hlavy, těla a ocasu a je podélně upevněno na nadvarletní okraj na kaudální plochu mesorchia. Hlava varlete tvoří nejnižší část, kam vstupují vývodné kanálky varlete (Najbrt a kol., 1982). Na přechodu hlavy a těla nadvarlete se všechny odvodné kanálky vzájemně spojují v jednotný vývod nadvarlete. Tělo nadvarlete navazuje plynule na hlavu a má tvar úzkého protáhlého oblouku, volně připojeného k varleti (Marvan a kol., 2011). Při ocasním konci varlete přechází tělo nadvarlete v ocas nadvarlete. Ocas nadvarlete pak tvoří rozšířenou část. (Najbrt a kol., 1982).

V nadvarleti se shromažďují spermie a funkčně zde dozrávají. Spermie vytvořené ve varleti přecházejí do hlavy nadvarlete, kde se zahušťují a kde jsou přestárlé a poškozené spermie fagocytovány. (Jelínek a kol., 2003). Do hlavy nadvarlete se pohlavní buňky a varletní tekutina dostávají vývodnými kanálky z varletní sítě. Spermie jsou dopravovány do nadvarlete proudem tekutiny ze semenotvorných kanálků (Reece, 2011). Během průchodu nadvarletem se mění jejich metabolická aktivita. V hlavě nadvarlete vykazují intenzivní respiraci a sníženou glykolýzu, zatímco v ocasu nadvarlete je poměr obrácený. V těle nadvarlete se spermie setkávají se sekrety bohatými na tuky a další látky, které zvyšují odolnost jejich povrchových membrán. Spermie v nadvarleti zůstávají nepohyblivé, nacházejí se v klidovém stavu nazývaném anabióza, který umožňuje prodloužení jejich životnosti (Jelínek a kol., 2003).

3.2.3 Chámovod

Chámovod (*ductus deferens*) je párová silnostěnná trubička tloušťky stébla až brku (Marvan a kol., 2011). Navazuje na vývod nadvarlete a ústí do močové trubice, kam odvádí spermie. Chámovod prochází poševním kanálem do břišní dutiny, kde se obloukem stočí do kaudálního směru a podél mediálního okraje semenného váčku se dostane až na dorsální plochu močové trubice (Najbrt a kol., 1982). V místě, kde chámovod opustí nadvarle a směřuje do dutiny břišní, je spolu s varletní tepnou, žílou, nervem, lymfatickými cévami a svalem vnitřním zdvihačem varlete obalen útrobním listem poševního obalu. Společně tak vytvářejí semenný provazec. Útrobní list poševního obalu obklopuje rovněž varlata a epididymis. Vzniká vchlípením pobřišnice při sestupu varlat do šourku (Reece, 2011).

U koně a přežvýkavců se chámovod v pánevním úseku rozšiřuje ve vřetenovitou ampulu chámovodu. V úrovni krčku močového měchýře se chámovod opět zužuje, zanořuje se pod tělo prostaty a těsně před svým vyústěním do močové trubice se spojuje s vývodem měchýřkovité žlázy v krátký ejakulační kanálek (Marvan a kol., 2011).

3.2.4 Šourek

Šourek (*scrotum*) má podobu vaku a je tvořen kůží a podkožím. V šourku jsou uloženy varle a nadvarle kryté svými obaly (Najbrt a kol., 1982). Pod kůží šourku je vrstva buněk hladké svaloviny, která se při poklesu teploty kontrahuje a přidrží varlata blíže k břišní stěně. Šourek je vystlán blánou, nazvanou vnitřní povázka varlete, k níž zevnitř přirůstá nástěnný list poševního obalu (Reece, 2011). Jeho hlavní úlohou je vytvoření příznivého teplotního prostředí pro rozvoj spermií (Jelínek a kol., 2003).

3.2.5 Přidatné pohlavní žlázy

Přídatné pohlavní žlázy (*glandulae genitales accessoriae*) se nacházejí na pánevní části močové trubice. Vyměšují sekret, který se při ejakulaci mísí se spermiemi a vytváří podstatnou část ejakulátu, semennou plazmu (Jelínek a kol., 2003). Tyto sekrety, vylučované do močové trubice, tvoří jednak přirozené ředidlo spermií, jednak obsahují látky, které slouží k výživě spermií, a konečně upravují spermiím prostředí během jejich průchodu močovou trubicí a pohlavním ústrojí samice (Marvan a kol., 2011). Žlázy jsou tvarově i velikostí druhově odlišné a některé mohou u určitých živočišných druhů chybět. K přídatným

pohlavním žlázám patří ampule chámovodu, měchýřkovité žlázy, prostata a bulbouretrální žlázy (Reece, 2011).

Před ústím do močové trubice se chámovod vřetenovitě rozšíří v ampuli chámovodu (*Ampula ductus deferentis*). Kaudálně se ampule chámovodu náhle zužuje a spojuje se s vývodem semenného váčku (Najbrt a kol., 1982). Uhřebce a přežvýkavců se konečná část chámovodu rozšiřuje v ampuli chámovodu, jejíž žláznatá část vylučuje sekret stimulující metabolickou aktivitu spermií. Spermie se z ampulí chámovodů dostávají společně se sekretem měchýřkovitých žláz ejakulačním kanálkem do močové trubice na semenném hrbolku. U samců bez ampulí chámovodů se spermie dostávají do močové roury při ejakulaci z ocasu nadvarlete kontrakčními vlnami celého chámovodu (Jelínek a kol., 2003). Ampuli chámovodu produkují menší množství sekretu, obsahujícího u býka mimo jiné fruktózu a kyselinu citrónovou (Sova a kol., 1981). U kance ampule chámovodu není vytvořena. Chámovod vyúsťuje na semenném váčku samostatně, jeho konečný úsek obsahuje menší množství žláz (Najbrt a kol., 1982).

Měchýřkovité žlázy (*glandula vesicularis*) býka vznikají jako vychlípenina kaudálního konce chámovodu. Leží u skotu jako párový orgán dorsolaterálně od krčku močového měchýře (Najbrt a kol., 1982). Vyúsťují spolu s chámovody do močové roury na semenném hrbolku (Sova a kol., 1981). Nacházejí se po stranách chámovodu a mají kompaktní lalůčkovitou stavbu s rozbrázděným povrchem (Marvan a kol., 2011). Ve struktuře i velikosti jsou značné druhové rozdíly. Největší jsou u kance, u psa chybějí. (Sova a kol., 1981). Strukturálně je to složitá tubulózní žláza, vylučující bělavý slabě zásaditý sekret, který se hromadí v rozšířených nitrolalůčkových a mezilalůčkových vývodech (Marvan a kol., 2011). Svůj sekret vyměšují na konci ejakulace. U býka a kance tvoří obvykle větší část celého ejakulátu. Sekret obsahuje flavonoidy, fruktózu, kyselinu citrónovou, inositol a relativně hodně iontů draslíku (Sova a kol., 1981).

Předstojná žláza (*prostata*) je nepárová a leží na začátku močové trubice, kaudálně od vyústění chámovodů a měchýřkovitých žláz (Marvan a kol., 2011). Nachází se při krčku močového měchýře a ve stěně pánevní části močové trubice. Dělí se na tělo prostaty a roztroušenou část (Najbrt a kol., 1982). Do močové trubice vyúsťuje četnými vývody. Strukturálně a velikostně se opět druhově značně liší. Sekret prostaty je vylučován při ejakulaci těsně před spermiemi a současně s nimi (Jelínek a kol., 2003). Je to řídká, průzračná

kapalina. Obsahuje volné aminokyseliny, neobsahuje cukry. Relativně vysoký obsah zinku odlišuje sekret prostaty od jiných tělních tekutin (Sova a kol., 1981).

Bulbouretrální žláza (*glandula bulbourethralis*) leží na močové rouře v místě, kde vystupuje z pánevní dutiny. Většinou má oválný tvar. U kance je podlouhlá, značně velká. U psa není vyvinuta (Sova a kol., 1981). U býka se nachází po obou stranách dorsální plochy močové trubice, těsně před výstupem močové trubice z pánve. Skládá se ze dvou samostatných kýjovitých žláz (Najbrt a kol., 1982). Sekret těchto žláz je převážně vylučován na konci ejakulace a po pohlavním styku vytváří u prasnice huspeninovitou hmotu, vaginální zátku v děložním krčku, která má zabránit zpětnému výtoku semene (Jelínek a kol., 2003). Dle Sovy se oproti tomu sekret vyměšuje na začátku ejakulace. Upravuje prostředí vývodných cest pro semeno a zbavuje močovou rouru zbytků moči (Sova a kol., 1981).

3.2.6 Pyj

Pyj (*penis*) představuje zevní kopulační ústrojí samce. Jeho tvar a stavba umožňují zavedení do kopulačního ústrojí samice při pohlavním aktu. Penis domácích savců zasahuje od*arcus ischiadicus*pánve až téměř do krajiny pupeční (Najbrt a kol., 1982). Má válcovitý tvar a skládá se z fixované části – kořene pyje a volné části – těla pyje. Kořen pyje je pomocí dvou ramen pevně připojen na kaudální zaoblenou plochu obou sedacích kostí a přechází v tělo. To je ve své kaudální části uloženo v řídkém podkožním vazivu krajiny hráze a v mezinoží (Marvan a kol., 2011). Konec penisu ukrývá kožní duplikatura, zvaná předkožka (Najbrt a kol., 1982). Objemově největší část pyje tvoří topořivé těleso pyje obklopené fibrózním obalem, od něhož pronikají do topořivého tělesa vazivové trámce. Mezi trámci jsou štěrbinovité prostory vystlané endotelem, do nichž vyúsťují větve tepen (Jelínek a kol., 2003). Ve ventrálním žlábku topořivého tělesa probíhá močová roura (Sova a kol., 1981). Močová trubice je obklopena houbovitým tělesem pyje, které na konci přechází v houbovité těleso žaludu. Na vrcholu žaludu močová trubice vyúsťuje (Jelínek a kol., 2003).

Při pohlavním podráždění dochází k dilataci přívodných krevních cév a dutiny topořivých těles se plní krví. Tím se pohlavní úd zvětšuje a vazivové pouzdro topořivého tělesa se napíná. Dochází k ztopoření pyje – erekci. Je to reflexní děj, jehož centrum se nachází v bederní míše (Sova a kol., 1981). Při páření samec vzeskočí na samici, zasune

ztopořený pohlavní úd do pochvy a po druhově odlišné době frikce dojde k ejakulaci (Jelínek a kol., 2003). Dojde k vpravení semena do pohlavního ústrojí samice (Sova a kol., 1981).

3.2.7 Spermatogeneze

Sperma (ejakulát, semeno, chám) je tvořeno spermiemi a semennou plazmou. Spermie se vytvářejí po dosažení pohlavní dospělosti v semenotvorných kanálcích varlete a celý proces jejich tvorby je označován jako spermatogeneze (Jelínek a kol., 2003). Spermatogeneze má dosáhnout tří hlavních cílů: mitotického množení spermatogonických kmenových buněk; meiotické rekombinace; a diferenciace a zrání spermií (Li et al., 2002). Proces spermatogeneze se uskutečňuje v pravidelných cyklech a probíhá kontinuálně v průběhu celého reprodukčního období života (Jelínek a kol., 2003). Někteří autoři rozdělují spermatogenezi na dvě etapy, přičemž první zvaná spermatocytogeneze je tvořena obdobím rozmnožování, růstu a zrání, druhá zvaná spermatohistogeneze (též metamorfóza) pak zahrnuje přeměnu spermatid na spermie (Sova a kol., 1981).

Spermatogonie vznikají ze samčích zárodečných buněk a před tím, než se diferencují do spermatocytů, mají jistou schopnost regulace svojí populace, tuto schopnost mají díky neúplné proliferaci do konečné fáze (Guo et Zheng 2004). Každá mateřská buňka A-spermatogonie se rozdělí na dvě nestejně velké dceřiné buňky. Jednu větší a podobnou mateřské buňce (A – spermatogonie), která zůstává po delší dobu v latentním stadiu (interfáze) a druhou, menší intermediální buňku (typ I_m), která se několikrát dělí a výsledkem jsou buňky typu B (Jelínek a kol., 2003). Na základě histologie můžeme tedy spermatogonie rozdělit do tří typů: typ A – zásobní buňky, typ I_m – intermediální buňky, vznikající dělením typu A, a typ B – je pokračováním spermatogonie intermediálního typu a slouží jako výchozí typ pro další vývoj; jejich dělením v závěru období rozmnožování vznikají primární spermatocyty (Sova a kol., 1981). Na období množení navazuje období růstu, kdy primární spermatocyt zvětší svůj objem. Období zrání (meiózy) je charakterizováno dvěma po sobě následujícími děleními a výsledkem je redukce počtu chromozomů na polovinu a rekombinace genetických vloh (Jelínek a kol., 2003). Při přechodu od spermatogonie na spermatocyt, je mitóza ukončena a naopak začne spermatogenního diferenciace, zahrnující meiózu. DNA replikace začíná u primárních spermatocytů, kdy buňky vcházejí do dlouhé meiotické profáze, kde se kromě párování chromozomů a jejich rekombinace, aktivují chromozómy k transkripci různorodých specifických genů. Tyto geny jsou zodpovědné za

unikátní vlastnosti spermií, např. schopnosti pohybu (White-Cooper et Bausek; 2010). V prvním meotickém dělení vznikají spermatocity II. řádu. Druhým meiotickým dělením vznikají čtyři spermatidy. Jsou charakterizovány přítomností vždy jen jednoho sexchromozomu – X chromozom nebo Y chromozom (Jelínek a kol., 2003). Během procesu vývoje spermií se jednotlivá stádia posunují k luminu kanálků, takže na příčném histologickém řezu lze zaznamenat několik buněčných generací nad sebou (Sova a kol., 1981).

Období metamorfózy je poslední fází spermatogeneze, při níž se okrouhlá a nepohyblivá spermatida mění ve štíhlou, kopinatou a pohyblivou spermii. Probíhá ve výběžcích Sertoliho buněk (Jelínek a kol., 2003). V průběhu spermatohistogeneze se jádro spermatidy prodlužuje, oplošťuje a posouvá k apikálnímu pólu buňky. Tak vzniká hlavička spermie. Na předním pólu jádra se vytváří z Golgiho aparátu složitým procesem akrozom, jenž jako nositel specifických enzymů má význam pro penetraci spermie do vajíčka při oplozovacím ději. Oba buněčné centrioly se přesouvají k zadnímu pólu hlavičky a dávají vznik krčku a osovému vláknu bičíku spermie (Sova a kol., 1981). Metamorfozované spermie se uvolňují z výběžků podpůrných buněk a dostávají se do lumen semenotvorných kanálků a do vývodných cest. Postup spermií do ocasu nadvarlete trvá v průměru 12 dní. Spermie se ukládají v ocasu nadvarlete a jsou nepohyblivé (Jelínek a kol., 2003). Na buněčné a strukturální úrovni jsou spermie vysoce specializované subjekty, odlišné od ostatních buněk v organismu. Mezi mechanizmy velmi rychlé adaptace v evoluci spermií pak patří pohlavní výběr, sexuální konflikt a soupeření spermií (Swanson et Vacquier, 2002)

3.2.8 Hormonální řízení spermatogeneze

Reprodukční funkce jsou řízené synergickým působením nervového a endokrinního systému. (Sova a kol., 1981). Řídícím orgánem pohlavních funkcí je konkrétně hypotalamus a adenohypofýza, dalšími složkami reprodukčního systému jsou gonády a vývodné pohlavní cesty. Koordinace mezi jednotlivými složkami řízení pohlavní aktivity probíhá neurohumorálně v obou směrech (Jelínek a kol., 2003). Tato regulace je řízena pomocí geneticky fixovaného vnitřního systému, jenž je pod vlivem vnějšího časového činitele. Jednotlivé nervové a endokrinní složky podílející se na regulaci pohlavní činnosti jsou sice uspořádány hierarchicky, ale přitom se vzájemně ovlivňují (Sova a kol., 1981).

Kůra koncového mozku skrze smyslové orgány přijímá a zaznamenává podněty z vnějšího a vnitřního prostředí, pak je nasledně předává do hypotalamu. V hypotalamu se nachází přední a zadní sexuální centra. Zadní centrum obsahuje jádra, ve kterých se na základě impulsů z předního centra vytvářejí neurosekrety zvané liberiny - gonadotroin releasing hormon (GnRH) (Jelínek a kol., 2003). Ty pomocí krevní cesty stimulují uvolňování gonadotropních hormonů v předním laloku hypofýzy. Hypofyzární gonadotropní hormony ovlivňují funkci varlat. Varlata pak dále působí na další části reprodukční soustavy a zpětně i na činnost hypofýzy (Sova a kol., 1981). Mezi gonadotropní hormony patří folikuli stimulující hormon – FSH, který je významný pro zahájení spermatogeneze a udržení kvantitativní produkce zárodečných buněk. Tento hormon napomáhá vstupu zárodečných buněk do meiozy (Abel et al., 2008). FSH také stimuluje růst semenotvorných kanálků a produkci hormonu inhibinu (zpětně působí na hypofýzu a brzdí tvorbu FSH). Dalším gonadotropním hormonem je luteinizační hormon – LH, ten působí především na Leydigovy buňky a stimuluje tvorbu testosteronu. Testosteron je steroid tvořený spolu s dalšími androgeny ve varlatech (Jelínek a kol., 2003). Hlavní účinek androgenů je udržování spermatogeneze. Studie ukazují, že adheze mezi sertoliho buňkama a spermiemi je závislá na androgenech, které zabraňují zadržování a fagocytóze zralých spermatid (O'Donnell a kol, 2011). Testosteron sám o sobě působí především na vznik pohlaví, sexuální diferenciaci a stimulaci tvorby sekundárních pohlavních znaků, růst pohlavního údu, růst a sekreční funkci přídatných pohlavních žláz a formování samčího pohlavního chování (Jelínek a kol., 2003). Hormony se podílejí na regulační činnost společně, jejich působení vyvolává antagonistické, nebo synergické reakce dalších hormonů. Je tedy těžké izolovat účinky jedné látky, neboť často ovlivňují hladinu dalších hormonů, které pak zároveň působí na činnost pohlavní soustavy (Abel et al., 2008).

3.3 Vliv mykotoxinů na reprodukci samců

3.3.1 Morfologicko - fyziologické změny orgánů a tkání

Mykotoxiny svým působením na reprodukční soustavu často vyvolávají u samčích pohlavních orgánů rozsáhlé patologické změny. V mnoha případech dochází k atrofii varlat, nadvarlat i dalších tkání (Ortatatli et al. 2002). Celkově dochází k poklesu hmotnosti zvířete, která zároveň koreluje s činností reprodukčních orgánů, a to zejména u dospívajících jedinců. Věk, ve kterém zvířata dosáhnou puberty, přímo souvisí s jejich hmotností, neboť toxiny inhibují růst zvířete, což zpožďuje nástup puberty a tím i zrání reprodukčních orgánů. (Ewuola et Egbunike, 2010). Gbore (2009) uvádí, že u prasat vystavených účinkům mykotoxinů došlo, v závislosti na dávce toxinu ke zpoždění puberty o 9 až 30 dní. Což je přibližně o 20 % delší období pohlavní nedospělosti. Ve studii Supriya et al. (2004) byli samci myší krmeni subletálními dávkami aflatoxinu B1 (10, 20, nebo 50 mg / kg tělesné hmotnosti). Výsledkem bylo významné snížení přírůstku tělesné hmotnosti a relativní hmotnosti varlat a jiných reprodukčních orgánů. Pokles hmotnosti varlat mohl být mimo jiné způsoben i degenerací zárodečného epitelu. Na tuto degeneraci poukazuje i studie Ortatatli et al. (2002). Ta dokazuje, že příjem toxigenních metabolitů způsobuje ve varlatech degenerace a trupovitost epitelu a celkovou atrofii jednotlivých vrstev semenných kanálků (Ortatatli et al. 2002). Jednotlivé druhy zvířat jsou na toxické účinky mykotoxinů různě senzitivní. U přežvýkavců se předpokládá určitá detoxikace mykotoxinů bachorovou mikroflórou, na působení těchto toxinů jsou tedy méně citliví než ostatní druhy zvířat, přesto i u těchto samců vyvolává dlouhodobý příjem aflatoxinů dystrofické změny spermiogenního epitelu (Svobodová a kol., 2008).

3.3.2 Vliv na hormonální soustavu

Působení mykotoxinů na hladinu hormonů je zaznamenáváno, především u testosteronu, hlavního samčího androgenního hormonu, u kterého často po intoxikaci dochází ke snížení serologických hodnot. Jedním z mechanizmů účinku je i vyblokování látek, potřebných k produkci hormonů. Například při přítomnosti aflatoxinu, který má vyšší vazebnou afinitu ke steroidním receptorům než cholesterol, je v organismu narušena produkce testosteronu, pro který je, vzhledem ke steroidní povaze, cholesterol zásadní komponentou. V důsledku toho, že je morfologie a funkční integrita varlat a přídatných pohlavních tkání

závislá na biologické dostupnosti androgenů, může být tato blokace cholesterolu také jedním z důvodů snížení pozorované hmotnosti varlat a dalších pohlavních orgánů. (Supriya et al., 2004). Fumonisinové toxiny jsou významní inhibitoři procesu biosyntézy sphingolipidů, jenž mimo jiné řídí hladinu tělního cholesterolu. To potlačuje syntetickou aktivitu Leydigových buněk, což vede k nedostatečné produkci testosteronu. (Savard et al., 2016).

Hormonální působení mykotoxinů na reprodukční funkce bylo prokázáno studiemi na mnoha druzích zvířat. Kupříkladu studie na psech odhalily, že týdenní expozice zearalenononu (200 μg / kilogram živé hmotnosti) způsobuje u těchto jedinců poruchy reprodukčního systému, které mizí, nejpozději do čtyř týdnů, po přerušení jeho příjmu krmivem. Příčina tohoto jevu tkví především v estrogenní aktivitě zearalenonu (Svobodová a kol., 2008). Častou příčinou negativního účinku tohoto fusariového mykotoxinu je právě blokace estrogenových receptorů. Předávkování zearalenonem pak může mít za následek hyperestrogenismus, což následně vede k poruchám samčích pohlavních orgánů (Savard et al., 2016)

3.3.3 Účinky na spermatogenezi a fertilizační potenciál

Mykotoxiny mohou u spermií vyvolávat různé abnormality, které vedou až k celkovému potlačení spermatogeneze. Narušení procesu spermatogeneze zpravidla předchází anatomicko – morfologické změny pohlavních orgánů, které jsou zároveň ukazatelem spermatogenní patologie vznikající v závislosti na elevačním působení mykotoxinů a délce jejich expozice (Ortatatli et al., 2002).

Mykotoxiny se negativně podílejí na mnohých ukazatelích spermiogramu – objemu, koncentraci, motilitě, morfologii, a jiných. Jednimi z nich je i objem ejakulátu a koncentrace. Studie provedená na prasatech, kde byl sledován vliv fumonisinu na kvalitu ejakulátu, prokázala pokles celkové koncentrace spermií už při dávkování nad 5 mg fumonisinu / kg živé váhy. Tyto hodnoty se ve srovnání s neintoxikovanými jedinci snížily zhruba na 70 %. Také denní produkce spermií byla při stejné koncentraci inhibována přibližně o 30 % (Gbore et Egbunike, 2008). Dalšími faktory ovlivňujícími tento proces je i poškození Sertoliho a Leydigových buněk, což narušuje celý proces spermatogeneze (Ewuola et Egbunike, 2010). Důvodem poklesu koncentrace spermií není jen snížení jejich tvorby, ale také zvušující se procento apoptózy pohlavních buněk, což je zároveň jeden ze zásadních jevů toxicity těchto

metabolitů (Ewuola et Egbunike, 2010). Příčin apoptózy pohlavních buněk je mnoho. Jedním důvodů je skutečnost, že glutathionový systém, který opravuje poškozené molekuly a pohlcuje zhoubné látky v samčích reprodukčních orgánech, je pravděpodobně díky činnosti mykotoxinů nestabilní, a to vede v rámci spermatogeneze k apoptóze pohlavních buněk (Yang et al., 2007). Dalším faktorem je skutečnost, že sfingolipidové molekuly zároveň souvisí i s řízením indukované apoptózy, ke které může docházet v rámci působení stresových faktorů, nebo při poškození zárodečných buněk. Tyto mechanizmy jsou spouštěny i v případě přítomnosti mykotoxinů a mohou být pravděpodobně spojeny i s poruchou činnosti pohlavních žláz a s celkovou neplodností zvířat (Savard et al., 2016).

Mykotoxiny dokáží změnit také fyzikální vlastnosti ejakulátu, jako je barva. Tuto hypotézu ověřila studie Ewuola et Egbunike (2010) prováděná na samcích králíků, u kterých koncentrace 10 mg fumonisinů / kg živé hmotnosti vyvolala mléčné zabarvení spermatu. Změna zabarvení byla pravděpodobně způsobena změnou koncentrace jednotlivých složek ejakulátu. Zároveň byly pozorovány morfologické abnormality spermií, například přítomnost cytoplazmatické kapky na bičíku, která svědčí o jejich nezralosti. Dále docházelo k deformaci bičíku a oddělení akrozomového váčku na přední straně hlavičky spermie (Ewuola et Egbunike, 2010). I v případě jiných studií bylo zaznamenáno procentuální snížení akrozomální integrity spermií (Yang et al., 2007).

V rámci jednotlivých organel ve spermii jsou histologické změny velmi různorodé. V případě účinku fumonisinů na reprodukční schopnosti koně, nedochází u spermií k žádnému poškození plazmatické membrány. Poškození je naopak pozorovatelné například v případě mezibuněčných spojů, jako je gap junctions, čímž je narušena interakce mezi sousedními buňkami (Minervini et al. 2010). Mykotoxiny jsou také schopné, skrze zvýšenou peroxidaci lipidů, vyvolávat oxidační poškození. Zvýšená peroxidace lipidů může změnit buněčnou membránovou strukturu a tím pak blokovat buněčný metabolismus. I tyto faktory tedy mohou vysvětlit negativní účinky mykotoxických látek nejen na spermie, ale celkově na celou pohlavní soustavu (Yang et al., 2007).

Společně v závislosti na morfologických znacích, se mění i fyziologie pohlavních buněk. Po dlouhodobém působení mykotoxinů klesá u spermií frekvence a rozsah pohybu. Motilita spermií je závislá na mitochondriální činnosti. Fumonisiny mohou způsobovat až

mortalitu mitochondrií a tím také snižovat pohyblivost samčích zárodečných buněk (Minervini et al., 2010)

Samci, kteří jsou vystaveni účinkům mykotoxinů, vykazují v závislosti na intenzitě kontaminace a citlivosti jedince, snížený reprodukční potenciál až narušenou plodnost. Klesá nejen počet úspěšných oplodnění, ale v případě oplození je ovlivněn i následný embryonální vývoj, což se projevuje zvýšenou prenidační resorpcí zygot (Yang et al., 2007). Dále se zvyšuje riziko fetálních abortů. Minervini et al. (2010) uvádí, že toxicita mykotoxinů může u hřebců zapříčiňovat funkční změny, které dokáží způsobovat subfertilitu. Je tedy prokázáno, že mykotoxiny mají silný embryo-toxický účinek, který však nebyl potvrzen ve všech případech, neboť jak dokládá studie Ewuola et Egbunike, (2010) v rámci jejich pokusu na králících i přes prokázané negativní účinky mykotoxinů na reprodukční soustavu, nedošlo při spáření zdravé samice s intoxikovaným samcem, k eliminaci velikosti vrhu ani zvýšeným abortům, nebo jiným embryonálním abnormalitám, které byly v rámci této studie sledovány.

4 Závěr

Cílem této práce bylo vypracovat ucelený literární přehled o vlivu vybraných mykotoxinů na reprodukční systém samců. Mnohé studie, zde uvedené dokládají, že mykotoxiny jsou jednoznačnou hrozbou pro reprodukci samců. Reprodukční soustavu ovlivňují na mnoha úrovních – jsou příčinou morfologicko – fyziologických změn pohlavních orgánů, negativně působí na hormonální soustavu a především narušují spermatogenezi a snižují fertilizační potenciál.

Mykotoxiny jsou velice významné kontaminanty nejen hospodářských krmiv, a proto je i v současnosti důležité zaměřit se na produkci kvalitních krmiv, jejichž hodnota bude zachována i během zpracovatelských procesů. Výzkumy, hledající eliminační mechanizmy pro snížení toxicity těchto látek, mohou mít pro reprodukci významný přínos. Obecným východiskem, v rámci této problematiky, je upřednostňování kvality nad kvantitou, respektování kontrolních a regulačních mechanizmů, nařízení EU a také věnování pozornosti dalším výzkumům zabývajícím se tímto tématem.

5 Literatura

Abel, M. H., Baker, P. J., Charlton, H. M., Monteiro, A., Verhoeven, G., De Gendt, K., O'shaughnessy, P. J. 2008. Spermatogenesis and sertoli cell activity in mice lacking sertoli cell receptors for follicle-stimulating hormone and androgen. Endocrinology. 149 (7). 3279-3285.

Avantaggiato, G., Havenaar, R.,Visconti, A. 2003. Assessing the zearalenone-binding activity of adsorbent materials during passage through a dynamic in vitro gastrointestinal model. Food and Chemical Toxicology. 41 (10). 1283-1290.

Bermudez, A. J., Ledoux, D. R., Rottinghaus, G. E. 1995. Effects of Fusarium moniliforme culture material containing known levels of fumonisin B1 in ducklings. Avian diseases. 879-886.

Betina, V. 1990. Mykotoxíny: chémia-biologia-ekológia. Alfa. Bratislava. 284 s. ISBN: 8005006314

Betz, F. S., Hammond, B. G., Fuchs, R. L. 2000. Safety and advantages of Bacillus thuringiensis-protected plants to control insect pests. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 32 (2). 156-173.

Bräse, S., Encinas, A., Keck, J., Nising, C. F. 2009. Chemistry and biology of mycotoxins and related fungal metabolites. Chem Rev. 109 (9). 3903-3990.

Calderone, R. A., Cihlar, R. L. (eds.). 2002. Fungal pathogenesis: principles and clinical applications. Marcel Dekker, Inc. New York. p. 776. ISBN: 0824705688

Caserta, D., Maranghi, L., Mantovani, A., Marci, R., Maranghi, F., Moscarini, M. 2008. Impact of endocrine disruptor chemicals in gynaecology. Human reproduction update. 14 (1). 59-72.

Cetin, Y., Bullerman, L. B. 2005. Evaluation of reduced toxicity of zearalenone by extrusion processing as measured by the MTT cell proliferation assay. Journal of agricultural and food chemistry. 53 (16). 6558-6563.

Cortinovis, C., Pizzo, F., Spicer, L. J., Caloni, F. 2013. Fusarium mycotoxins: Effects on reproductive function in domestic animals - A review. Theriogenology. 80 (6). 557-564.

Creppy, E. E. 2002. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. Toxicology letters. 127 (1). 19-28.

da Cruz Cabral, L., Pinto, V. F., Patriarca, A. 2013. Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods. International journal of food microbiology. 166. (1) 1-14.

Dashwood, R., Negishi, T., Hayatsu, H., Breinholt, V., Hendricks, J., Bailey, G. 1999. Chemopreventive properties of chlorophylls towards aflatoxin B1: a review of the antimutagenicity and anticarcinogenicity data in rainbow trout. Carcinogenesis. 20 (10). 245 - 253.

Dersjant-Li, Y., Verstegen, M. W., Gerrits, W. J. 2003. The impact of low concentrations of aflatoxin, deoxynivalenol or fumonisin in diets on growing pigs and poultry. Nutrition research reviews. 16 (02). 223 - 239.

D'mello, J. P. F., Placinta, C. M., Macdonald, A. M. C. 1999. Fusarium mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. Animal feed science and technology. 80 (3). 183 - 205.

Dowd, P. F. 1998. Involvement of arthropods in the establishment of mycotoxigenic fungi under field conditions. Marcel Dekker. New York. 350 p.

El-Nezami, H., Polychronaki, N., Salminen, S., Mykkänen, H. 2002. Binding Rather Than Metabolism May Explain the Interaction of Two Food-Grade Lactobacillus Strains with Zearalenone and Its Derivative ά-Zearalenol. Applied and Environmental Microbiology. 68 (7). 3545 - 3549.

European Food Safety Authority. 2005. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to fumonisins as undesirable substances in animal feed. EFSA Journal. 235. 1 - 32.

European Food Safety Authority. 2011. Scientific opinion on the risks for public health related to the presence of zearalenone in food. EFSA Journal. 9 (2). 1 - 124.

Ewuola, E. O., Egbunike, G. N. 2010. Effects of dietary fumonisin B1 on the onset of puberty, semen quality, fertility rates and testicular morphology in male rabbits. Reproduction. 139 (2). 439-445.

Gajęcka, M., Zielonka, Ł., Dąbrowski, M., Mróz, M., Gajęcki, M. 2013. The effect of low doses of zearalenone and its metabolites on progesterone and 17β-estradiol concentrations in peripheral blood and body weights of pre-pubertal female Beagle dogs. Toxicon. 76. 260-269.

Gajęcka, M., Zielonka, Ł., Gajęcki, M. 2015. The effect of low monotonic doses of zearalenone on selected reproductive tissues in pre-pubertal female dogs - A review. Molecules. 20 (11). 20669-20687.

Gbore, F. A., Egbunike, G. N. 2008. Testicular and epididymal sperm reserves and sperm production of pubertal boars fed dietary fumonisin B 1. Animal reproduction science. 105 (3). 392-397.

Gbore, F. A. 2009. Growth performance and puberty attainment in growing pigs fed dietary fumonisin B1. Journal of animal physiology and animal nutrition. 93 (6). 761-767.

Glenn, A. E. 2007. Mycotoxigenic Fusarium species in animal feed. Animal Feed Science and Technology 137 (3). 213-240.

Guo, G. Q., Zheng, G. C. 2004. Hypotheses for the functions of intercellular bridges in male germ cell development and its cellular mechanisms. Journal of theoretical biology. 229 (1). 139-146.

He, J., Zhou, T. 2010. Patented techniques for detoxification of mycotoxins in feeds and food matrices. Recent patents on food, nutrition & agriculture. 2 (2). 96-104.

Holmes, R. A., Boston, R. S., Payne, G. A. 2008. Diverse inhibitors of aflatoxin biosynthesis. Applied Microbiology and Biotechnology. 78 (4). 559-572.

Chulze, S. N. 2010. Strategies to reduce mycotoxin levels in maize during storage - a review. Food Additives and Contaminants. 27 (5). 651- 657.

IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. 2002. Non-ionizing radiation: Static and extremely low-frequency (ELF) electric and magnetic fields. World Health Organization. France. p. 429. ISBN: 9789283212805.

Jakic-Dimic, D., Nesic, K., Savic, B., Keckes, J., Pisinov, B. 2010. Presence of fungi in poultry feed and effects of contaminants on health status. In: Levic, J., Đuragić, O., Sredonović, S. Proceedings of the XIV international symposium feed technology. Novi Sad. Serbia. p. 248–253

James, R. **C.** 1985. General principles of toxikology. In: Williams, P. L., Burson, J. L. (eds.). Industrial toxicology. Van Nostrand Reinhold. New York. p. 7-26.

JECFA-Joint, F. A. O. 2000. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. WHO food additives series. Geneva. 44.

Jelínek, P., Koudela, K. Doskočil, J., Illek, J., Kotrbáček, V., Koudela, K., Kovářů, F., Kroupová, V., Kučera, M., Kudláč, E., Trávníček, J., Valent, M. 2003. Fyziologie hospodářských zvířat. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. Brno. 409 s. ISBN: 8071576441

Kalač, P., Míka, V. 1988. Přirozené škodlivé látky v rostlinných krmivech a jejich vliv na zdraví a užitkovost hospodářských zvířat. Výstavnictví zemědělství a výživy České Budějovice. Nové Město.

Kensler, T. W., Roebuck, B. D., Wogan, G. N., Groopman, J. D. 2011. Aflatoxin: a 50-year odyssey of mechanistic and translational toxicology. Toxicological Sciences. 120 (1). 28-48.

Kuiper, G. G., Lemmen, J. G., Carlsson, B. O., Corton, J. C., Safe, S. H., Van Der Saag, P. T., Gustafsson, J. A. 1998. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor β. Endocrinology. 139 (10). 4252-4263.

Lee, M. M. 2007. Endocrine disruptors. A Current Review of Pediatric Endocrinology, 109-118

Liu, J., Sui, Y., Wisniewski, M., Droby, S., Liu, Y. 2013. Review: utilization of antagonistic yeasts to manage postharvest fungal diseases of fruit. International journal of food mikrobiology. 167 (2). 153-160.

Marin, S., Ramos, A. J., Cano-Sancho, G., Sanchis, V. 2013. Mycotoxins: occurrence, toxicology, and exposure assessment. Food and Chemical Toxicology. 60. 218-237.

Marquardt R. R., Madhyastha S. 2015. Mycotoxins in feed and animal products. Proceedings of the 1st World Conference on Innovative Animal Nutrition and Feeding. Akadémiai Kiadó. Hungary. p. 58–63.

Marvan, F. (ed.). 2011. Morfologie hospodářských zvířat. Česká zemědělská univerzita v Praze v nakl. Brázda. Praha. 303 s. ISBN: 9788021321885.

McKenzie, K. S., Sarr, A. B., Mayura, K., Bailey, R. H., Miller, D. R., Rogers, T. D., Phillips, T. D. 1997. Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone. Food and Chemical Toxicology. 35 (8). 807-820.

Minervini, F., Giannoccaro, A., Cavallini, A., Visconti, A. 2005. Investigations on cellular proliferation induced by zearalenone and its derivatives in relation to the estrogenic parameters. Toxicology letters. 159 (3). 272-283.

Minervini, F., Lacalandra, G. M., Filannino, A., Garbetta, A., Nicassio, M., Dell'Aquila, M. E., Visconti, A. 2010. Toxic effects induced by mycotoxin fumonisin B1 on equine spermatozoa: assessment of viability, sperm chromatin structure stability, ROS production and motility. Toxicology in Vitro. 24 (8). 2072-2078.

Mokoena, M. P., Chelule, P. K., Gqaleni, N. 2005. Reduction of fumonisin B1 and zearalenone by lactic acid bacteria in fermented maize meal. Journal of food protection. 68 (10). 2095-2099.

Munkvold, G. P. 2003. Cultural and genetic approaches to managing mycotoxins in maize. Annual review of phytopathology. 41 (1). 99-116.

Najbrt, R. (ed.). 1982. Veterinární anatomie. [Díl] 2. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 594 s.

Nesic, K., Ivanovic, S., Nesic, V. 2014. Fusarial toxins: secondary metabolites of Fusarium fungi. In: Whitacre, D. M. (ed.). Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. Volume 228. Springer Science & Business Media. New York. P. 101 – 120. ISBN: 9783319016191.

Norred, W. P., Plattner, R. D., Vesonder, R. F., Bacon, C. W., Voss, K. A. 1992. Effects of selected secondary metabolites of Fusarium moniliforme on unscheduled synthesis of DNA by rat primary hepatocytes. Food and chemical toxikology. 30 (3). 233-237.

O'Donnell, L., Nicholls, P. K., O'Bryan, M. K., McLachlan, R. I., Stanton, P. G. 2011. Spermiation: the process of sperm release. Spermatogenesis. 1 (1). 14-35.

Ortatatli, M., Ciftci, M. K., Tuzcu, M., Kaya, A. 2002. The effects of aflatoxin on the reproductive system of roosters. Research in veterinary science. 72 (1). 29-36.

Papaioannou, M. D., Pitetti, J. L., Ro, S., Park, C., Aubry, F., Schaad, O., McManus, M. T. 2009. Sertoli cell Dicer is essential for spermatogenesis in mice. Developmental biology. 326 (1). 250-259.

Placinta, C. M., D'mello, J. P. F., Macdonald, A. M. C. 1999. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with Fusarium mycotoxins. Animal feed science and technology. 78 (1). 21-37.

Ramljak, D., Calvert, R. J., Wiesenfeld, P. W., Diwan, B. A., Catipovic, B., Marasas, W. F., Gelderblom, W. C. 2000. A potential mechanism for fumonisin B1-mediated hepatocarcinogenesis: cyclin D1 stabilization associated with activation of Akt and inhibition of GSK-3β activity. Carcinogenesis. 21 (8). 1537-1546.

Rapid Alert System for Food and Feed. 2015. Annual report. European Commission. Belgium. p. 45. ISBN: 9789279582158

Reece W. O. 2011. Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat. Grada. Praha. 473 s. ISBN 9788024732824.

Rice, L. G., Ross, P. F. 1994. Methods for detection and quantitation of fumonisins in corn, cereal products and animal excreta. Journal of Food Protection®. 57 (6). 536-540.

Riley, R. T. 1998. Mechanistic interactions of mycotoxins: Theoretical considerations. In: Kaushal, K. S., Deepak, B. (eds.). Mycotoxins in Agriculture and Food Safety. Marcel Dekker, Inc. New York. p. 227-253. ISBN: 0824701925.

Rheeder, J. P., Marasas, W. F., Vismer, H. F. 2002. Production of fumonisin analogs by Fusarium species. Applied and Environmental Microbiology. 68 (5). 2101-2105.

Ryu, D., Hanna, M. A., Bullerman, L. B. 1999. Stability of zearalenone during extrusion of corn grits. Journal of Food Protection®. 62 (12). 1482-1484.

Savard, C., Nogues, P., Boyer, A., Chorfi, Y. 2016. Prevention of deoxynivalenol-and zearalenone-associated oxidative stress does not restore MA-10 Leydig cell functions. Toxicology. 341. 17-27.

Schollenberger, M., Müller, H. M., Rüfle, M., Suchy, S., Plank, S., Drochner, W. 2006. Natural occurrence of 16 Fusarium toxins in grains and feedstuffs of plant origin from Germany. Mycopathologia. 161 (1). 43-52.

Schroeder, J. J., Crane, H. M., Xia, J., Liotta, D. C., Merrill, A. H. 1994. Disruption of sphingolipid metabolism and stimulation of DNA synthesis by fumonisin B1. A molecular mechanism for carcinogenesis associated with Fusarium moniliforme. Journal of Biological Chemistry. 269 (5). 3475-3481.

Smith, G. W., Constable, P. D., Foreman, J. H., Eppley, R. M., Waggoner, A. L., Tumbleson, M. E., Haschek, W. M. 2002. Cardiovascular changes associated with intravenous administration of fumonisin B1 in horses. American journal of veterinary research. 63 (4). 538-545.

Sova, Z. (ed.). 1981. Fyziologie hospodářských zvířat. Státní Knihovna ČSR. Praha. 511 s.

Stone, R. 2002. Peering into the shadows: Iraq's bioweapons program. Science. 297 (5584). 1110-1112.

Streit, E., Naehrer, K., Rodrigues, I., Schatzmayr, G. 2013. Mycotoxin occurrence in feed and feed raw materials worldwide: long-term analysis with special focus on Europe and Asia. Journal of the Science of Food and Agriculture. 93(12). 2892-2899.

Strosnider, H., Azziz-Baumgartner, E., Banziger, M., Bhat, R. V., Breiman, R., Brune, M. N., Henry, S. H. 2006. Workgroup report: public health strategies for reducing aflatoxin exposure in developing countries. Environmental health perspectives. 1898-1903.

Supriya, C., Girish, B. P.,Reddy, P. S. 2014. Aflatoxin B1-induced reproductive toxicity in male rats: possible mechanism of action. International journal of toxikology. 33(3). 155-161.

Svobodová, Z. 2008. Veterinární toxikologie v klinické praxi. Profi Press. Praha. 256 s. ISBN 9788086726274.

Swanson, W. J., Vacquier, V. D. 2002. The rapid evolution of reproductive proteins. Nature Reviews Genetics. 3 (2). 137-144.

Szécsi, Á., Szekeres, A., Bartok, T., Oros, G., Bartok, M., Mesterhazy, A. 2010. Fumonisin B1-4-producing capacity of Hungarian Fusarium verticillioides isolates. World Mycotoxin Journal. 3 (1). 67-76.

Tomaszewski, J., Miturski, R., Semczuk, A., Kotarski, J., & Jakowicki, J. 1998. Tissue zearalenone concentration in normal, hyperplastic and neoplastic human endometrium. Ginekologia polska. 69 (5). 363-366.

Ünüvar, T., Büyükgebiz, A. 2015. Fetal and neonatal endocrine disruptors. In: Croft, C. (ed.). Environmental Hazards and Neurodevelopment: Where Ecology and Well-Being Connect. Apple Academic Press. Canada. p. 97 – 116. ISBN: 9781498714389

van der Lee, T., Zhang, H., van Diepeningen, A., Waalwijk, C. 2015. Biogeography of Fusarium graminearum species complex and chemotypes: a review. Food Additives & Contaminants: Part A. 32 (4). 453-460.

Weidenbörner, M. 2001. Encyclopedia of food mycotoxins. Springer Science & Business Media.

White-Cooper, H., Bausek, N. 2010. Evolution and spermatogenesis. Philosophical ransactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences. 365 (1546). 1465-1480

Wielogorska, E., Elliott, C. T., Danaher, M., Connolly, L. 2014. Validation and application of a reporter gene assay for the determination of estrogenic endocrine disruptor activity in milk. Food and Chemical Toxicology. 69. 260-266.

Wild, C. P., Gong, Y. Y. 2010. Mycotoxins and human disease: a largely ignored global health issue. Carcinogenesis. 31(1). 71-82.

Wu, F. 2014. Global impacts of aflatoxin in maize: trade and human health. World Mycotoxin Journal. 8 (2). 137-142.

Yang, J. Y., Wang, G. X., Liu, J. L., Fan, J. J., Cui, S. 2007. Toxic effects of zearalenone and its derivatives α-zearalenol on male reproductive system in mice. Reproductive Toxicology. 24 (3). 381-387.

Zinedine, A., Soriano, J. M., Molto, J. C., Manes, J. (2007). Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: an oestrogenic mycotoxin. Food and chemical toxikology. 45 (1). 1-18.