

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra ochrany rostlin



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Obsah mykotoxinu DON v zrně ječmene jarního
napadeného houbami rodu *Fusarium***

Diplomová práce

**Autor práce: Bc. Zuzana Lišková
Rostlinolékařství**

**Vedoucí práce: prof. Ing. Pavel Ryšánek, CSc.
Konzultant: Ing. Jana Chrpová, CSc.**

© 2023 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Obsah mykotoxinu DON v zrně ječmene jarního napadeného houbami rodu *Fusarium*" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové 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 diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14. 4. 2023

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Janě Chrpové, CSc. a dalším členům týmu Genetika a šlechtitelské metody ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby, v. v. i. za pomoc a vedení při praktické i teoretické části práce a dále vedoucímu práce panu prof. Ing. Pavlu Ryšánkovi, CSc. za pomoc při zpracování diplomové práce.

Obsah mykotoxinu DON v zrně ječmene jarního napadeného houbami rodu *Fusarium*

Souhrn

Tato diplomová práce sleduje obsah mykotoxinu DON u ječmene jarního po napadení houbami rodu *Fusarium*. Hodnotí se hlavně význam odrůdy, řadovosti (dvouřadá, šestiřadá) a přítomnosti pluch. Pokus probíhal ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby v Ruzyni v.v.i. a práce sleduje výsledky z let 2019, 2020 a 2021.

Byla provedena polní inokulace, kdy se z každé odrůdy vybralo 10 klasů ve fázi střed kvetení a nastříkala se na ně suspenze konidií *F. culmorum*. Po sklizni a vymláčení zrn z klasů došlo k laboratornímu hodnocení, kdy se pomocí serologické metody ELISA provedlo měření koncentrace mykotoxinu DON v zrnech.

Byl sledován vliv ročníku na hodnocený materiál. Jako nejlepší rok pro šíření a napadení rostlin patogenem se jevil rok 2020, který nebyl tak suchý jako rok 2019, avšak nebyl ani bohatý na srážky jako rok 2021. Měl srážky vhodně rozmístěné po celý červen a červenec, a hlavně oproti ostatním ročníkům neměl období tropických dnů, které výrazně snižují vzdušnou vlhkost a tím zhoršují podmínky pro napadání a šíření patogenu.

V roce 2020 byly naměřeny nejvyšší obsahy mykotoxinu DON, a to u odrůd Trebi (373,3 mg/kg), Entresole (290,3 mg/kg) a Lion (278,3 mg/kg). Všechny tyto odrůdy patřily mezi odrůdy náchylné k fuzariózám klasu. Tyto hodnoty byly až o sto mg/kg vyšší než nejvyšší naměřené hodnoty v letech 2019 a 2021. V roce 2019 byla nejvyšší hodnota u linie 2/43, a to pouze 165,7 mg/kg. Rok 2019 byl také specifický tím, že bylo velké množství zástupců, u kterých byl nulový obsah mykotoxinu. Tito zástupci patřili mezi odolné odrůdy. V roce 2021 byla nejvyšší hodnota 235,46 mg/kg u linie 17/605/60.

Z hlediska materiálu se jako velmi odolné k akumulaci mykotoxinu DON projevíly odrůdy nesladovnických ječmenů, a naopak velmi náchylná byla současná novošlechtění. Mezi těmito materiály tvořily průměr odrůdy z genové banky, u kterých byl i nejvýraznější vliv ročníku.

Oproti dvouřadému měl ječmen šestiřadý vyšší akumulaci mykotoxinu DON v zrně. Může za to hlavně stavba klasu, kdy klas ječmene šestiřadého není tak vzdušný, jako klas ječmene dvouřadého a pokud je ovlhčen, déle se na něm udrží vlhkost. Patogenu to tak ulehčuje šíření po klasu, a hlavně zlepšuje podmínky pro napadení zrna. Byl zde patrný vliv ročníku, kdy v roce 2020 měl ječmen šestiřadý nejvyšší akumulaci obsahu DON, a to 120 mg/kg.

Pluchaté ječmeny jarní vykazovaly vyšší akumulaci mykotoxinu DON v zrně než ječmeny nahé, které dokonce v roce 2019 měly průměrnou akumulaci mykotoxinu pod 10 mg/kg, což byla nejnižší sledovaná akumulace ze všech hodnocených skupin.

Klíčová slova: ječmen jarní, *Fusarium*, mykotoxiny, DON, rezistence

Mycotoxin DON content in grains of spring barley infected by fungi from the genus *Fusarium*

Summary

This diploma thesis monitors the content of the mycotoxin DON in the grain of spring barley after being infected by fungi of the genus *Fusarium*. It assesses resistance of individual materials (current advanced breeding lines, varieties from the gene bank, non-malting spring barley), six-row and double-row, and hulled and hull-less spring barley. The experiment took place at the Crop Research Institute in Prague - Ruzyně, and the work deals with the results of experiments from 2019, 2020, and 2021.

Field inoculation was performed, 10 ears from each variety of spring barley were selected in phase mid-flowering and sprayed with a suspension of *F. culmorum* conidia. After harvesting and threshing of the grains from the ears, there was a laboratory evaluation, where the concentration of mycotoxin DON in the grain was measured using the serological ELISA method.

The influence of year on the material was monitored. The year 2020 appeared to be the best year for spread of the pathogen and its attack of plants. It was not as dry as year 2019, but it was not as rich in rain precipitation as year 2021. It had rain precipitation conveniently distributed throughout June and July, and above all, compared to other years, it did not have a period of tropical days, which significantly decrease the air humidity and thereby worsen the conditions for pathogen attack and spread.

In 2020, the highest DON mycotoxin contents were measured in the varieties Trebi (373,3 mg/kg), Entresole (290,3 mg/kg) and Lion (278,3 mg/kg). All these varieties were varieties susceptible to *Fusarium* head blight. These values were up to one hundred mg/kg higher than the highest measured values in 2019 and 2021. In 2019, the highest value was for line 2/43 and it was only 165,7 mg/kg. The year 2019 was also specific, because there were many varieties and lines with zero mycotoxin content. Those varieties belonged to resistant varieties. In 2021, the highest value was 235,46 mg/kg for line 17/605/60.

From the monitored material, non – malting barley varieties proved to be very resistant to the accumulation of the mycotoxin DON, and on the contrary, current new breedings were very susceptible. Among these groups, the average group were varieties from the gene bank that were most significantly influenced by the year.

Compared to two-rowed barley, six-rowed barley had a high accumulation of mycotoxin DON in the grain. This is mainly due to the structure of the ear, when the ear of six-rowed barley is not as airy as the ear of two-rowed barley, and if it is moistened, it retains moisture longer. This makes it easier for the pathogen to spread through the ear, and mainly improves the conditions for attacking the grain. There was a noticeable effect of year, when in 2020, six-row barley had the highest accumulation of DON content, more than 150 mg/kg.

Hulled spring barley showed a higher accumulation of mycotoxin DON in the grain than naked barley, which in 2019 had an average accumulation of mycotoxin below 10 mg/kg, which was the lowest monitored accumulation of all evaluated groups.

Keywords: spring barley, *Fusarium*, mycotoxins, DON, resistance

Obsah

1 Úvod	9
2 Vědecká hypotéza a cíle práce	10
3 Literární rešerše	11
Ječmen jarní	11
3.1.1 Dělení.....	11
3.1.2 Využití	12
3.1.2.1 Sladovnický ječmen.....	12
3.1.2.2 Krmný ječmen	12
3.1.2.3 Průmyslový ječmen	13
3.1.2.4 Potravinářský ječmen	13
Fuzarióza klasu.....	13
3.1.3 Symptomy	14
3.1.4 Šíření.....	15
3.1.5 Management ochrany.....	17
Mykotoxiny	19
3.1.6 Maximální povolené limity.....	19
3.1.7 DON.....	21
3.1.8 ZEA.....	21
3.1.9 Maskované mykotoxiny.....	22
3.1.10 Detekce mykotoxinů	23
3.1.10.1 ELISA.....	23
4 Metodika	24
4.1 Materiál	24
4.2 Průběh počasí	25
4.3 Příprava inokula, inokulace a symptomatické hodnocení.....	26
4.4 Stanovení koncentrace mykotoxinu DON	27
4.5 Statistické vyhodnocení	27
5 Výsledky	29
5.1.1 Výsledky hodnocení zkoušených materiálů	30
5.1.2 Výsledky hodnocení podle počtu řad.....	32
5.1.3 Výsledky hodnocení podle přítomnosti pluch	34
6 Diskuse	37
Průběh počasí	37
Výsledky hodnocení podle materiálu.....	37
Výsledky hodnocení podle počtu řad.....	38
Výsledky hodnocení podle typu zrna.....	39

7 Závěr	40
8 Literatura.....	42
9 Seznam obrázků a grafů.....	49
10 Samostatné přílohy	I

1 Úvod

Ječmen jarní je celosvětově známá a poměrně hojně pěstovaná obilnina s využitím hlavně v krmném a sladovnickém průmyslu, kdy ke sladování byly vyšlechtěny speciální sladovnické odrůdy. V potravinářském průmyslu je stále jeho zastoupení malé, ale začíná se dostávat do popředí hlavně v pekárenství a ve formě tzv. funkčních potravin (Moudrý 2000; Zimolka, 2006).

Fuzarióza klasu patří mezi velmi významné choroby obilnin. S touto houbovou chorobou se setkáme na pšenici, ječmeni, žitě, triticales, ale i na různých druzích trav a na kukuřici. Jedná se o chorobu způsobenou mikroskopickými vláknitými houbami rodu *Fusarium*. V Evropě se nejčastěji vyskytují *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae* a *F. avenaceum* (Malachová et al. 2010; Bottalico & Perrone 2002).

Rostliny jsou napadány hlavně v době, kdy jsou nejnáchylnější – střed kvetení (Ireta & Gilchrist 1994.). Po napadení dochází k typickým symptomům a pokud je vysoká vzdušná vlhkost, klas se zbarví do bílé až lososově růžové barvy vlivem růstu mycelia. Jako inokulum nejčastěji slouží infikované rostlinné zbytky zanechané na poli, ale může setrvat v půdě, a to i několik let. Doporučuje se proto dodržovat správný osevní postup, dostatečná agrotechnika s hlubokou orbou a pěstování rezistentních odrůd (Chrprová 2017; Janssen et al 2019).

Výskyt fuzariózy na pozemku a napadení pěstované plodiny může mít na následek 10-40% ztráty. Nejde však jen o ztráty ve výnosu, kdy dochází ke snížení produkce zrna a často i produkci drobnějších zrn, ale také snížení kvality vlivem výskytu mykotoxinů (Champeil et al. 2004; Schmale & Bergstorm 2003).

Nejčastěji se vyskytujícím a tím pádem i nejvíc kontrolovaným mykotoxinem je deoxynivalenol (zkratka DON). Dále se v infikovaném zrně hodnotí zastoupení mykotoxinu zearalenonu (zkráceně ZEA), který má stejně jako DON maximální stanovené limity v potravinách a krmivu (Komise evropských společenství, 2006). Mykotoxiny představují zdravotní riziko pro konzumenty (potravinářský a krmný ječmen), kdy dochází k akutním i chronickým otravám a u některých se diskutuje o jejich možné karcinogenitě. U sladovnických odrůd ječmene jarního dochází ke zhoršení sladovnických vlastností a komplikuje se sladovnický proces (Piacentini et al. 2019).

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Hypotézy:

- Mezi materiály ječmene jsou rozdíly, jelikož jsou hodnoceny velmi odlišné skupiny s různým zastoupením jak náchylných, tak odolných odrůd.
- Ječmen dvouřadý má nižší koncentraci mykotoxinu DON oproti ječmeni šestiřadému.
- Ječmen pluchatý má nižší koncentraci mykotoxinu DON oproti ječmeni nahému.
- Na koncentraci mykotoxinu DON má vliv počasí – vyšší vlhkost během kvetení má příznivý vliv na napadení.

Cíl práce:

Cílem práce bylo zjištění obsahu mykotoxinu DON v zrně ječmene jarního, kdy byly zastoupeny různé druhy materiálu a linie. Měření obsahu mykotoxinu bylo provedeno pomocí serologické metody ELISA. Porovnávala se koncentrace DON u jednotlivých odrůd a linií a sledoval se vliv přítomnosti pluch a řadovosti na obsah mykotoxinu v zrně. Také se sledoval průběh počasí v době inokulace a hodnotil se vliv počasí na výskyt mykotoxinu.

3 Literární rešerše

Ječmen jarní

Ječmen jarní, je plodina, která se hojně pěstuje jak v našich končinách, tak i ve světě, kde patří mezi často pěstované plodiny. Svoje místo v žebříčku nejméně pěstovaných plodin si zachovává hlavně díky jeho vlastnostem, a to například velkému spektru využití, od potravinářství po sladovnictví a výrobu krmiv a také jeho širokému ekologickému přizpůsobení (Krausko et al. 1980; Brown Jr. et al. 2001).

Jeho produkce v posledních čtyř desetiletích světově stoupla o více jak 50 % a do budoucna se bude jeho produkce stále zvyšovat. Je to hlavně díky šlechtění, nízkonákladové produkci a potenciálnímu zvýšení jeho využití v potravinářském průmyslu (Shiferawa et al. 2013).

V roce 2021 EU sklídila 52,1 milionu tun ječmene (jarního i ozimého), což bylo o 2,6 milion tun méně než v roce 2020 (jedná se o 4,7% snížení). U některých klíčových producentů produkce velmi klesla (Španělsko -19 %, Dánsko -16,7 % a Švédsko -30 %), avšak například ve Francii došlo ke zvýšení produkce o 10 % a v Rumunsku dokonce o 73 %. Zároveň v roce 2021 výrazně stoupla cena obilovin, u ječmene až o 30 % (Eurostat 2022).

Ječmen jarní byl u nás dříve pěstován o dost méně než dnes. K intenzivnímu pěstování ječmene jarního napomohlo jeho sladovnické využití. Předtím byla k tomuto účelu pěstovaná sladovnická pšenice, ale v 17. století se přešlo na sladování ječmene. Tento milník odstartoval stavbu sladoven a jeho využívání ke sladování mu zajistilo nezastupitelné místo v osevních postupech (Hájek et al. 2006).

I když jeho sladovnické využití zvýšilo zájem o pěstování, objevily se i další důvody proč se ječmen jarní začal pěstovat. Jedním z nich je jeho nenáročnost k pěstování. Je to plodina, která se dá pěstovat i v horších podmínkách prostředí (sucho, vysoké pH půdy, vyšší teploty) a tak má potenciál předčít pšenici v oblastech, kde by její pěstování bylo náročnější a výnosy byly nižší (Afrika, Blízký východ). Pěstování v oblastech s nedostatečnou závlahou může zajistit vyšší výnos než pěstování pšenice, avšak nedoporučuje se zde pěstovat sladovnické kultivary. Tyto kultivary jsou totiž citlivější hlavně na sucho a půdní kyselost a pokud tyto faktory nejsou vyhovující, klesá kvalita sladovnických hodnot ječmene (Benda 2011).

3.1.1 Dělení

Stále se šlechtí nové kultivary ječmene jarního, u kterých se dbá především na výnosový potenciál. Předchůdcem dnešního ječmene byla forma dvouřadá. Forma šestiřadá se utvořila postupnou hybridizací a mutací dvouřadé formy. Všechny kulturní ječmeny a jejich plané formy se mezi sebou kříží a vzniká tak plodné potomstvo (Krausko et al. 1980).

Pěstované ječmeny se obecně řadí k jednomu kulturnímu druhu – ječmenu setému (Zimolka 2006). Dále se řadí do podskupin, podle plodnosti klásku a postavení středního klásku na tzv. konvariety:

- a) Ječmen setý víceřadý – má všechny klásky plodné a dále se dělí na:
 - Šestiřadý – 3 klásky plodné, 6 podélných řad obilek, které jsou rovnoměrně rozmístěny kolem vřetene

- Čtyřřadý – 3 klásky plodné, klas má také 6 řad obilek, avšak střední řada je těsně přilehlá k větenu a postranní obilky se překrývají. Klas tak vypadá, jako by měl pouze 4 řady obilek. Mnoho kultivarů ozimého a krmného ječmene se zařazuje do této skupiny.

b) Ječmen setý dvouřadý – má 3 klásky, avšak pouze střední klásek je plodný, klasy mají dvě podélné řady obilek a jsou ploché.

Můžeme sem ještě zařadit dvě specifické konvariety, a to ječmen setý přechodný, který má střední klásky plodné a postranní částečně nebo úplně neplodné. Zástupci jsou hlavně kultivary východoasijské, tibetské a skotské. Dále nalezneme v severní Africe a na Arabském poloostrově ječmen setý labilní s nestejným počtem plodných klásků (Petr & Húska 1997).

V praxi se používá toto řazení, dále u víceřadých i dvouřadých kultivarů nalezneme další formy, které řadíme podle pluchtosti (nahé/pluchaté), barvy pluch a osin (černé, žluté, ...), charakteru osin a přítomnosti osin (osinaté/bezosinné) a také podle postavení klasu (vzpřímený/háčkující) (Petr & Húska 1997).

3.1.2 Využití

Ječmen jarní má velmi variabilní využití a v současné době ho lze rozdělit podle užitkových směrů na ječmen:

- Sladovnický
 - Krmný
 - Průmyslový
 - Potravinářský
 - Pícninářský
- (Zimolka 2006)

3.1.2.1 Sladovnický ječmen

Aby ječmen mohl být využíván ke sladování, musí být zařazen do sladovnické kategorie. Sladovnický ječmen zahrnují odrůdy hodnocené 4-9 body v ukazateli sladovnické jakosti (USJ). Sleduje se hlavně obsah bílkovin (N-látek), obsah beta-glukanů, klíčivost a další ukazatele. Velký vliv na sladovnickou jakost mají podmínky pěstování (Zimolka 2006).

3.1.2.2 Krmný ječmen

Ke krmným účelům se používají všechny formy ječmene: víceřadé i dvouřadé, pluchaté i nahé. Je zde nutné kontrolovat obsah mykotoxinů, aby nedošlo k otravě zvířat. Také se sleduje obsah bílkovin s vysokým zastoupením esenciálních aminokyselin (Krausko et al. 1980).

Až 85 % vypěstovaného ječmene se zpracuje jako krmivo pro skot, prasata i drůbež. Zrno je upraveno, aby bylo pro zvířata dobře stravitelné a většinou se ještě obohacuje jinými látkami, které slouží jako zdroj bílkovin. Obecně se doporučuje krmný ječmen smíchat s jiným typem krmiva pro jeho vysoký obsah vlákniny (Akar et al. 2004).

3.1.2.3 Průmyslový ječmen

Využití ječmene k technickým účelům je stále velmi nízké. Uvádí se okolo 2 % využití a je zde stále potenciál vyššího využití právě v této oblasti. Používá se při výrobě ethanolu, když jsou ostatní obilniny (pšenice ozimá, triticales) vymrzlé, nebo napadené (Štěrba & Moudrý 2007).

3.1.2.4 Potravinářský ječmen

Ve vyspělých zemích není využití ječmene k potravinářským účelům tak časté. Většinou je nahrazen pšenicí, nebo triticales. Na druhou stranu v zemích, kde jsou horší podmínky na pěstování jiné plodiny (např. pšenice), je ječmen hojně využíván. Jedná se hlavně o oblasti s nižšími srážkami a s vysokým zasolením půdy (Newton et al. 2011). Zeměmi, kde se ječmen hojně využívá pro jeho potravinářské účely, jsou například Maroko, Indie a Etiopie (OECD 2000).

Ve vyspělých zemích sice ječmen není využíván tolik, jako pšenice, ale můžeme ho najít v dětské výživě a ve speciální výživě. Vysoký obsah neškrobových polysacharidů (beta-glukanů) a vlákniny přispěl k tomu, že se ječmen stal tzv. funkční potravinou. Doporučuje se při léčbě kardiovaskulárních a civilizačních nemocí, v různých formách diet a zdravého stravování. Vyrábí se z něj také krupky, nebo otruby pro lepší trávení a doplněk stravy tzv. zelený ječmen (Zimolka 2006).

Fuzarióza klasu

Tato choroba je způsobena různými druhy z rodu *Fusarium*.

Zařazení rodu obecně:

říše	Fungi
třída	Ascomycota
čeleď	Nectriaceae
rod	<i>Fusarium</i>

(Rostlinolékařský portál, 2023).

Toto houbové onemocnění, způsobené mikroskopickými vláknitými houbami rodu *Fusarium*, je rozšířené v pásech mírného klimatu po celém světě. Vyskytuje se globálně v obilnářských oblastech, kde způsobuje značné obtíže při pěstování. V našich podmínkách se setkáme hlavně s druhy *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum* a *Fusarium avenecum*. Odhaduje se, že je ještě 12 dalších druhů vyskytujících se v Evropě, které příležitostně mohou napadnout pšenici i ječmen, avšak nejsou tak důležité (Bottalico & Perrone 2002; Malachová et al. 2010).

Zástupci rodu *Fusarium* jsou velmi variabilní jak z hlediska hostitelského spektra, tak z hlediska klimatu. *Fusarium graminearum* se vyskytuje spíše v teplých a vlhkých podmínkách. Oproti tomu *Fusarium poae* dominuje i v suším prostředí (Yli-Mattila 2010).

Podmínky prostředí, které podporují rozvoj choroby a šíření infekce, jsou mírné teploty a vysoká vzdušná vlhkost. Dešťové srážky během kvetení a po kvetení podporují rozvoj patogenu. Pokud jsou klasy v období květu stále vlhké a teplota se pohybuje mezi 18–23 °C, hrozí vysoké riziko vzniku infekce (Nedělník 2014).

Kvůli klimatickým změnám a změnám v agrotechnice (minimalizace agrotechniky, špatný osevní postup, pěstování monokultur, ...) se stala fuzarióza klasu jednou z nejnebezpečnějších houbových chorob, která způsobuje velké ekonomické ztráty po celém světě (Osborne & Stein 2007).

Ztráty, které choroba způsobí v napadeném porostu, se odhadují okolo 10-40 % potenciální sklizně. Není však ohrožen jen výnos, ale také kvalita zrna. Napadené zrno může mít sníženou klíčivost a nižší hmotnost zrn. Zrno také ztrácí tvar a objem, ale dochází i k vizuální změny povrchu zrna, kdy má napadené zrno vrásčitý vzhled a často se může i změnit barva zrna. Zrno může mít světle hnědou až bílou barvu. Při vysokém napadení je zrno úplně zdeformované a je pokryto růžovým myceliem (Schmale & Bergstorm 2003; Champeil et al. 2004)

Je známo pět různých forem rezistence vůči původcům fuzariózy klasu. Množství kvítků v klasu, které vykazují počáteční infekci se používá k odhadu rezistence typu I. Toto hodnocení se provádí postřikem suspenze spor na kvetoucí klasy ve skleníku. Jsou zde pečlivě kontrolovány okolnosti infekce. Procento šíření spor (PSS) po klasu po inokulaci (na jednu nebo dvou místech) se používá ke stanovení rezistence typu II. Podle výpočtu by extrémně odolné kultivary měly mít hodnotu PSS do 5 % a vysoce náchylné kultivary okolo 100 %. Kultivary středně odolné budou uprostřed těchto rozmezí. Procento infikovaných obilek se používá ke stanovení rezistence typu III. Rezistence typu IV se stanovuje vůči hromadění DON a rezistence typu V se stanovuje porovnáním relativní ztráty na výnosu mezi infikovanými a neinfikovanými kultivary (Schroeder & Christensen 1963; Miller & Arnison 1986; Mesterházy 1995; Mesterházy 2002; Spanic et al. 2018). Rostlina vykazuje nejvyšší odolnost vůči fuzariózám klasu, pokud má více mechanismů rezistence. Při určování rezistence se nejčastěji sledují fyziologické reakce. Odolné rostliny se dále využívají pro šlechtění a tím se předává jejich genetická odolnost (Yu et al. 2008).

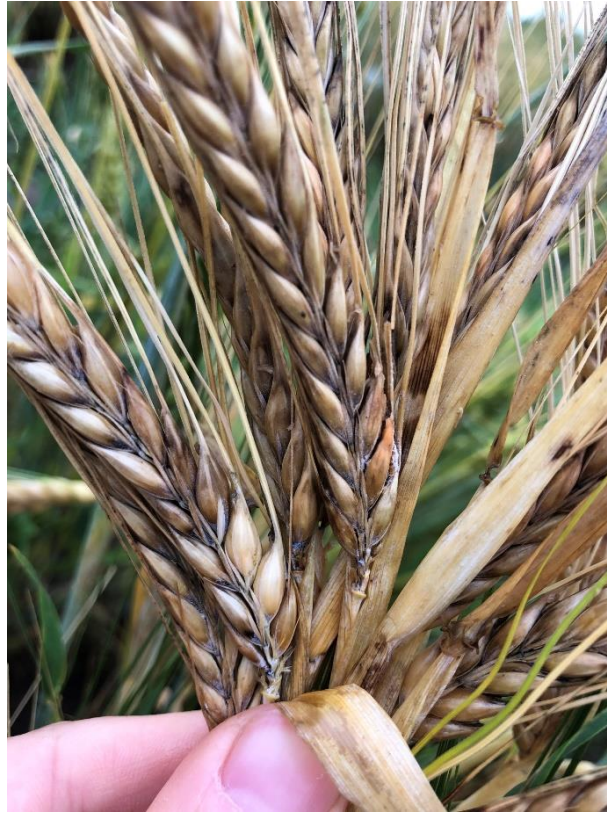
3.1.3 Symptomy

Při prosté terénní kontrole, pokud ještě není napadení plně rozvinuto, jsou symptomy u ječmene špatně rozeznatelné. Klasy se mohou zbarvit do hněda a na první pohled vypadat, jako by byly nasáklé vodou. Protože však mnoho různých patogenních organismů může vyvolat podobné příznaky, není identifikace podle tohoto symptomu stěžejní (Goswami & Kistler 2004).

První typické symptomy se objevují bezprostředně po odkvětu. Nejdřív dochází k blednutí a zasychání klásků v důsledku předčasného odumírání pletiva. Může docházet jen k částečnému vybělení, nebo i k odumření celého klasu. Zdravé klasy si zachovávají zelenou barvu. Častý symptom je i zubovitost klasu, kdy při prohmatání klasu necítíme zrna, protože jsou většinou vlivem napadení zaschlá, nebo nejsou vůbec vyvinutá. Později v průběhu vegetačního období se na klasech mohou objevit tmavá kulovitá perithecia. Při vhodných podmínkách prostředí (tzn. vyšší vzdušná vlhkost) lze vidět i konidie. Konidie mohou mít bílé

i charakteristické lososové zbarvení, které je nejlépe pozorovatelné ráno před zaschnutím rosy. Pokud je klas hodně napaden, mohou se postupně tvořit i na větenech, nebo v místech, kde k sobě klásky přiléhají (Schmale & Bergstorm 2003; Chrpová 2017).

Při silném napadení jsou viditelné symptomy i na zrně. Většinou dochází ke scvrkávání zrna, k tvorbě velmi malého zrna, které ulétne během mlácení, nebo se zrna ani nevyvine.



Obrázek č. 1: Lososové mycelium na klasech napadených houbami rodu *Fusarium*. Foto autorka

3.1.4 Šíření

Primárním inokulem jsou rostlinné zbytky, na kterých houba přečkává zimu jako saprofytické mycelium (Trail et al. 2005). Jedná se především o zbytky kukuřice na zrno, obilnin, vojtěšky a jetele. Zdrojem inokula může být i nesprávně namořené osivo (Chrpová et al. 2007). Na jaře, když jsou dobré podmínky pro vývoj, můžeme pozorovat na rostlinných zbytcích vznik perithecií – plodnic. Perithecia dozrávají na rostlinných zbytcích za přítomnosti světla, které je nutné pro jejich vývoj, a za teploty mezi 16 až 31 °C (Pereyra et al. 2004; Trail et al. 2005). V peritheciích se tvoří askospory zhruba 10 dnů a když dozrají, začnou se uvolňovat do okolí. Šíří se hlavně větrem a deštěm, mohou se šířit i pomocí hmyzu. Jelikož jsou askospory lepkavé, je jejich šíření velmi efektivní, protože ulpí na rostlině a pokud jsou vhodné podmínky, velmi rychle rostlinu infikují (Parry et al. 1995).

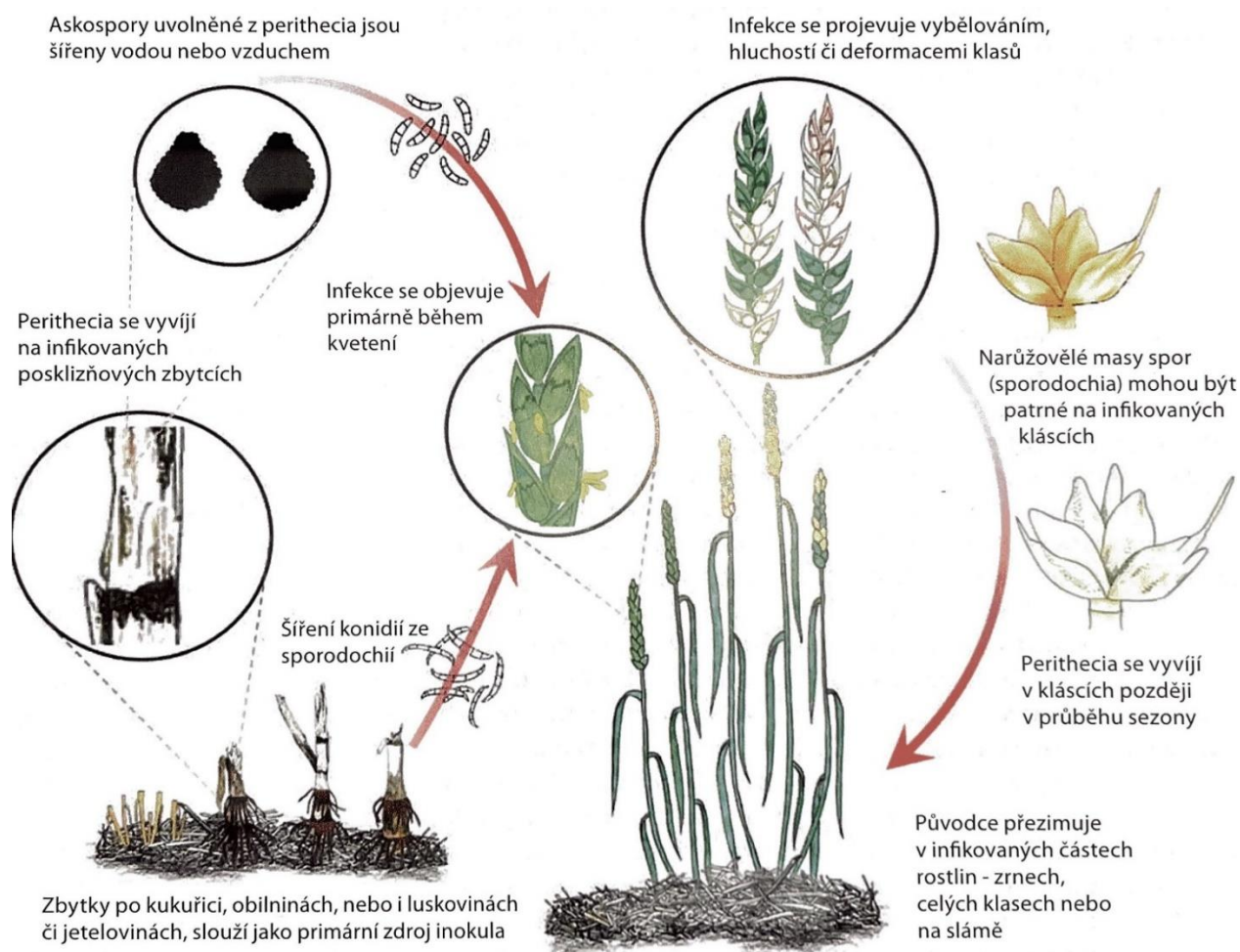
K infekci dochází během května až června, v době, kdy jsou klasy nejvíc náchylné (květ – vosková zralost). V průběhu kvetení je klas napadán přes prašníky. Pokud se askospory uchytí na ještě nekvetoucím klasu, zůstávají několik dnů životaschopné a mohou klas infikovat, dojde-

li ke kvetení v průběhu těchto pár dnů. Jestli-že ke kvetení nedojde, nedochází ani k infekci (Ireta & Gilchrist 1994.).

Z rostlinných zbytků – perithecií se také uvolňují makrokonidie a askospory, které se opět přenášejí hlavně deštěm a větrem a mohou způsobit primární infekci. Jejich přenos je však na kratší vzdálenosti a slouží jako sekundární infekce v pozdějších fázích vývoje zrna.

Jak askospory, tak makrokonidie přežívají na rostlinných zbytcích a v půdě i několik let a nadále jsou zdrojem infekce (Širučková & Kroutil 2007). V roce 1988 Khong and Sutton provedli polní pokus, kdy zbytky pšenice napadené *F. graminearum* umístily nad, na a pod půdní povrch. Zjistilo se, že ve třetím roce se perithecia nevyvinula na zbytcích, které byly zahrabány, ale pouze na zbytcích nad půdním povrchem. Pereyra and Dill-Macky (2004) poté tento pokus opakovali a došli k závěru, že napadené rostlinné zbytky zanechané na povrchu půdy degradovaly pomaleji a umožnili patogenu delší dobu přežívání.

Vlhkost vzduchu, teplota a srážky v době květu mají velký vliv na infekci a pozdější šíření choroby. Zvýšená pozornost porostům by měla být věnována v oblastech poblíž řek a vodních nádrží, kde v létě dochází k ranním mlhám a tvoří se vhodné mikroklima pro šíření patogena. Pokud jsou v době kvetení klasy stále vlhké a teplota mezi 18-24 °C, vytváří se velmi dobré podmínky pro šíření infekce (Nedělník 2014).



Obrázek 2: Vývojový cyklus fuzariózy klasu, Mills et al. 2016

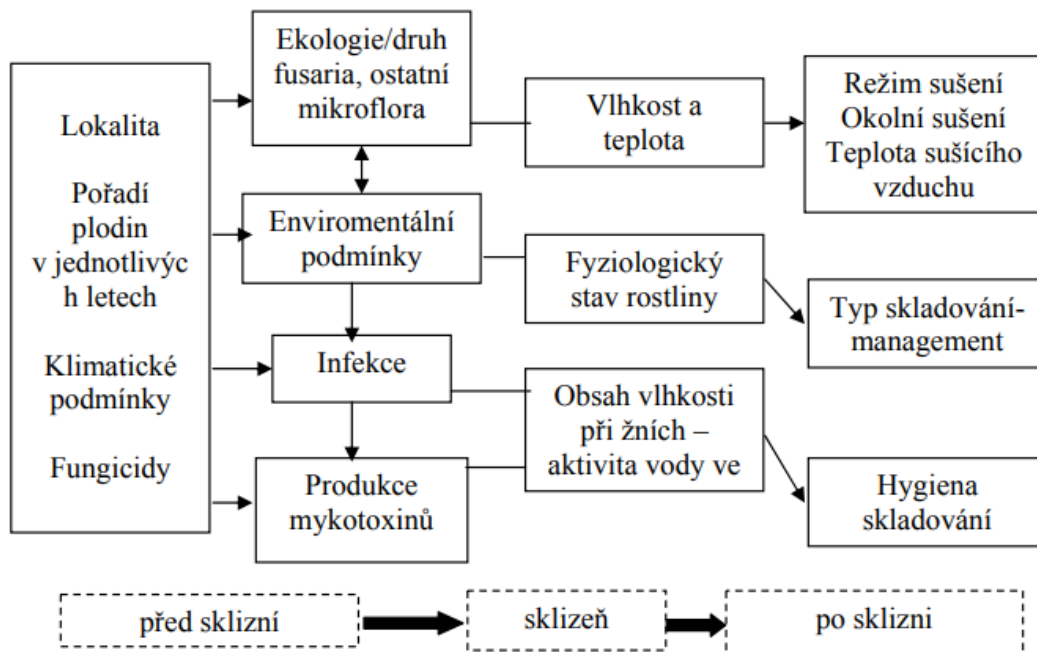
3.1.5 Management ochrany

Agrotechnická opatření významně snižují riziko napadení porostu a s tím související kontaminaci zrna mykotoxiny. Životnost plodin a jejich odolnost lze zvýšit správnou zemědělskou praxí (Janssen et al. 2019), a to například:

- Střídání plodin a zpracování půdy: Po dobu nejméně dvou let by se měl brát v úvahu přechod z obilnin na nehostitelské plodiny (např. řepka, luštěniny, ...) aby se snížilo hromadění kontaminovaných zbytků plodin. Koncentrace DON byla až o 50 % nižší při střídání sóji a pšenice než při pěstování pšenice po sobě (Dill-Macky and Jones 2000). V osevních postupech s převahou obilnin se doporučuje pěstování meziplodin (konkrétně hořčice bílé), protože snižují výskyt houbových napadení a zlepšují zdravotní stav rostlin (Kraska & Mielniczuk 2012). Schaafsam et al. (2005) zjistili, že porost na poli s minimální či žádnou orbou a předchozí plodinou kukuřicí, měl vyšší výskyt fuzariózy klasu a vyšší koncentraci mykotoxinu DON v zrně než pozemek, kde se uplatňovalo konvenční zpracování půdy. Hloubka orby také významně ovlivňuje výskyt fuzariózy. Množství izolované houby klesá s rostoucí hloubkou orby. Kromě toho odstranění zbytků plodin a jejich zaorání (zejména po sklizni obilnin) snižuje riziko výskytu fuzariózy na následné plodině (Gajęcki et al. 2010). V praxi se nedoporučuje pěstování obilnin v blízkosti ječmene, protože mohou sloužit jako zdroj inokula (Bushnell et al. 2003).
- Hnojení: Pravděpodobnost napadení porostu houbami z rodu *Fusarium* se zvyšuje, když je v půdě nadbytek dusíku. Napadení zrna se může lišit v závislosti na použitém hnojivu (močovina, dusičnan amonný nebo dusičnan vápenatý), avšak koncentrace mykotoxinu DON není ovlivněna (Yi et al 2001).
- Odolné odrůdy: Nejudržitelnějším řešením, jak snížit výskyt fuzariózy klasu a kontaminace zemědělských surovin mykotoxiny je využití genetických změn rostlin šlechtěním, nebo transgenezí a zajištění odrůd odolných nebo vykazujících částečnou rezistenci. (Lanubile et al. 2017). Na trhu je dnes možné najít odrůdy rezistentní, avšak stále je jich poměrně málo. Pěstitelé ve vysoce rizikových oblastech by měli volit kultivary s určitou úrovní rezistence. Do budoucna bude zapotřebí hledat nové zdroje rezistence, které bude možné uplatnit při šlechtění nových kultivarů. Výzkum by v tomto odvětví stále měl pokračovat (Wegulo et al. 2015). V současnosti není k dispozici žádný trvalý a zcela odolný kultivar a komerční kultivary mají stále jen částečnou rezistenci (Mesterházy et al. 2005).
- Čisté osivo: Zemědělci by se měli vyhýbat kontaminovanému osivu. K výsadbě se doporučuje použít pouze osivo certifikované, které je čisté a bez známek napadení. Osivo náchylných odrůd by mělo být předem zkontrolováno a testováno na přítomnost choroby. Infikovaná semena mohou způsobit plíseň semenáčků, ale hlavně se choroba šíří dál z infikovaného semene do pletiv rostlin (Alberta Agriculture and Forestry 2020).
- Mořené osivo: Mořením osiva se můžeme vyhnout padání klíčnicích rostlin způsobeným různými houbovými patogeny, které jsou semenem a půdou přenosné. Je to však pouze dočasné řešení a pouze mořením nezabráníme infekci

v pozdějším vegetačním období. Mořidlo se silnou účinností proti houbám rodu *Fusarium* je vhodné volit pro osivo z vlhčích poloh a pro osivo, pro které vyhláška ukládá požadavek na moření z důvodu vyššího výskytu fuzariových zrn (Křen et al. 2018).

- Aplikace fungicidů: Aplikace fungicidů snižuje napadení, a to pouze pokud je správně načasované (Lehoczki-Krsjak et al. 2010). Rostlina je nejvíc zranitelná pouze krátkou dobu (období kvetení). Tím pádem je termín, kdy fungicidy můžeme aplikovat, velmi omezený, a ještě ho ovlivňuje počasí (srážky, vítr). Optimální čas pro aplikaci fungicidů nastává, když je tzv. pole v plném květu – 50 % klasů na hlavních stoncích kvete (Alberta Agriculture and Forestry 2020). Zatímco mnoho studií prokázalo účinnost správné aplikace fungicidů, existují studie, které připouštějí, že v některých případech může aplikace fungicidů stimulovat produkci mykotoxinů. To představuje větší problémy při pěstování, protože rostliny mohou mít po aplikaci zdravě vypadající vzhled a napadení je tak částečně maskováno a může pak kdykoliv plně propuknout (Simpson et al. 2001).
- Omezení závlahy: Doporučuje se omezit závlahu těsně, před a během období kvetení. Sníží se tak vlhkost v porostu, kdy vysoká vlhkost podporuje infekci (Wegulo et al. 2015).
- Termín sklizně: Bernhoft et al. 2012 ve své studii dokázali, že nízké teploty před sklizní zvyšují kontaminaci zrna mykotoxinem DON a vysoká vzdušná vlhkost zvyšuje mykotoxin HT-2. Koncentrace DON se snižuje při zvyšujících se teplotách.



Obrázek 3: Faktory ovlivňující napadení zrna houbami rodu *Fusarium*. Hajšlová 2008.

Mykotoxiny

Mykotoxiny jsou chemicky různorodé, nízkomolekulární látky. Tvoří se jako sekundární metabolity hub rodů *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Claviceps* a *Alternaria* (Adebajo & Diyaolu 2003).

Rod *Fusarium* může produkovat řadu mykotoxinů, včetně fuminosinů, trichothecenů a zearalenonu. Zmíněné mykotoxiny mají největší ekonomický dopad na produkci i zdraví a jsou zvláště nebezpečné u ječmene, pšenice a kukuřice (FAO 2013). V potravinách a krmivech se také často vyskytují další fuzáriové mykotoxiny, jako například beauvericin, butenolid, enniatiny a moniliformin. Efekt těchto mykotoxinů na lidské zdraví nebyl prokázán (Gruber – Dorninger et al. 2017).

Primárními kontaminanty obilných plodin jsou trichoteceny produkované houbami rodu *Fusarium*. Koncentrace těchto mykotoxinů se zvyšuje za vlhkého počasí a také při odkládání sklizně. Fuzáriové mykotoxiny však neobsahuje jen zrno, ale za vlhkého počasí se mohou nalézat ve vysokých koncentracích i ve slámě a seně. Zde mohou dosahovat 100-150 mg/kg (Mostrom 2016).

Problematika výskytu mykotoxinů je dlouhodobě sledovaná, protože představuje zdravotní riziko jak pro zvířata, tak i pro člověka. Lidé se do styku s mykotoxiny dostávají hlavně konzumací kontaminovaných potravin, avšak nemělo by se zapomínat i na jiné možnosti styku s mykotoxiny. Může dojít k dermální absorpci a také k inhalaci. Inhalace se velmi často spojuje s nemocemi horních cest dýchacích, avšak stále toto tvrzení nebylo jednoznačně prokázáno (Pestka et al. 2008).

V závislosti na množství a délce expozice toxinům mohou mykotoxiny na organismus působit buď chronicky (chronická toxicita), nebo akutně (akutní toxicita) (Hussein & Brasel 2001). Většina mykotoxinů podporuje imunosupresi, která jak u lidí, ale hlavně u zvířat může zvýšit náchylnost k onemocnění tím, že naruší jejich imunitní systém. Ve vážných případech dochází i k úhynu zvířat. Úbytek hmotnosti a další subklinické důsledky mohou vést ke snížení produkce (snížená doživost a horší kvalita mléka, vajec i masa) (Marroquín-Cardona et al. 2014).

Nejdůležitějšími podněty pro biosyntézu mykotoxinů jsou stres rostlin, agrotechnika, postup sklizně, skladování obilí a také faktory prostředí jako například pH, teplota, fungicidy a sekundární metabolity z rostlin (Reverbri et al. 2010).

Vlivem mykotoxinů nemusí být ohroženo jen zdraví lidí a zvířat, ale u sladovnického ječmene mohou také negativně ovlivňovat proces sladování. U sladovnických ječmenů je proto skoro nulová tolerance výskytu mykotoxinů (Piacentini et al. 2019).

Obilné produkty mohou být kontaminovány mykotoxiny před i po sklizni. Dnes je nejvyšší prioritou prevence kontaminace během vegetace (Širučková & Kroutil 2007).

3.1.6 Maximální povolené limity

Mykotoxiny se ukázaly jako zdraví nebezpečné, a proto byly pro některé z nich stanoveny maximální povolené limity, pro potraviny a suroviny používané k jejich výrobě (směrnice 2002/32/ES) a pro krmiva (nařízení Komise ES č. 1881/2006). Nejznámější je limit pro deoxynivalenol u obilovin k přímé lidské spotřebě (obilní mouka, otruby, ...), který je 0,75

mg/kg. U těstovin v suchém stavu je tento limit stejný. Dále se také uvádí limit pro nezpracované obiloviny včetně pšenice tvrdé, ovsa a kukuřice, který je 1,25 mg/kg. Pro pečivo, sušenky a snídaňové cereálie je pak limit snížen na 0,5 mg/kg a u dětské výživy je limit stanoven 0,2 mg/kg. Další sledovaný mykotoxin je zearalenon, který má rozlišené limity pro kukuřici a pro ostatní obiloviny. U nezpracovaných obilovin je limit 0,1 mg/kg a u obilovin k přímé lidské spotřebě je 0,075 mg/kg. Pro pečivo, sušenky a snídaňové cereálie je limit nižší, a to pouze 0,05 mg/kg. Mykotoxiny, známé jako fumonisiny, mají maximální povolené limity určené pouze u kukuřice. Mykotoxiny T-2 a HT-2 jsou sice také uvedené ve směrnici, avšak nemají daný maximální povolený limit (Komise evropských společenství 2006).

Fuzáriové toxiny a další mykotoxiny jsou v ČR sledovány řadou institucí. V rámci úřední kontroly je sledování prováděno dozorčími orgány (Státní zemědělská a potravinářská inspekce, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Státní veterinární správa). Dále tuto problematiku řeší výzkumné organizace, jako například výzkumné ústavy a vysoké školy (Nedělník 2014).

Tabulka 1: Maximální povolené limity mykotoxinů, Komise evropských společenství 2006.

Mykotoxin	Max. povolený limit (mg/kg)
Deoxynivalenol	
Nezpracované obiloviny, jiné než pšenice tvrdá, oves a kukuřice	1,25
Obiloviny určené k přímé lidské spotřebě, obilná mouka, otruby a klíčky ve formě konečného výrobku uváděného na trh pro přímou lidskou spotřebu.	0,75
Těstoviny (v suchém stavu)	0,75
Pečivo (včetně malého běžného pečiva), jemné a trvanlivé pečivo, sušenky, svačinky z obilovin a snídaňové cereálie	0,5
Obilné příkrmy a ostatní příkrmy určené pro kojence a malé děti	0,2
Slad	0,75
Zearalenon	
Nezpracované obiloviny, jiné než kukuřice	0,1
Obiloviny určené k přímé lidské spotřebě, obilná mouka, otruby a klíčky ve formě konečného výrobku uváděného na trh pro přímou lidskou spotřebu	0,075
Pečivo (včetně malého běžného pečiva), jemné a trvanlivé pečivo, sušenky, svačinky z obilovin a snídaňové cereálie kromě svačinek z kukuřice a kukuřičných snídaňových cereálií	0,05
Obilné příkrmy (kromě kukuřičných příkrmů) a ostatní příkrmy určené pro kojence a malé děti	0,02
Slad	0,075

3.1.7 DON

Deoxynivalenol (zkráceně DON) je nejznámější a nejčastěji zastoupený mykotoxin skupiny B – trichothecenů. Lze jej najít prakticky po celém světě (Desjardins 2007).

Vyskytuje se hlavně v obilovinách (pšenice, ječmen, kukuřice). Méně často dochází k jeho výskytu v rýži, ovsu a žitu. *Fusarium graminearum* a *Fusarium culmorum* jsou druhy nejvíc spojené s výskytem DON. Je to nejznámější a nejčastější kontaminant obilovin a produktů z nich. Jeho přítomnost v potravinách a krmivech je ve více než 90 % všech vzorků a může být známkou přítomnosti dalších mykotoxinů (Soborova et al. 2010).

DON, chemicky známý jako 12,13epoxy-3,7,15-trihydroxitrichothe-9-en-8-on (C₁₅H₂₀O₆), je látka, která krystalizuje ve formě bezbarvých jehliček. Je také teplotně stabilní a je rozpustný v polárních organických rozpouštědlech, jako například acetonitril, chloroform, methanol, ethanol a ethylacetát (EFSA 2004).

Odolnost vysokým teplotám je jednou z hlavních fyzikálně – chemických vlastností mykotoxinu, která způsobuje potenciální zdravotní risk pro konzumenty. I za působení teploty 170 °C po dobu 30 minut se koncentrace DON nesnižuje. Zůstává dále extrémně stabilní i při vyšších teplotách od 170 až do 350 °C (Sugita-Konishi et al. 2006). Ani pečením se tedy jeho koncentrace nesníží, a to samé platí pro smažení kontaminovaných potravin na oleji. Pozorujeme však jeho úbytek při vaření, protože DON je vodorozpustný. Při vaření těstovin se tak vyluhuje do vařicí vody a částečně tak dojde ke snížení jeho koncentrace (Visconti et al. 2004).

Typické symptomy otravy mykotoxinem DON vychází z dalšího jména, kterým je označován, a to je vomitoxin. Při otravě DON se nejčastěji setkáváme s průjmy (jak u člověka, tak u zvířat), které jsou způsobené zanícením epitelu tenkého střeva. Vysoké dávky poté vedou k nevolnostem, zvracení a anorexii, či úbytku hmotnosti. Dochází také k nekrotickým tkáním např. lymfoidních tkání, kostní dřeni a gastrointestinální stěny. Také způsobuje poruchy i na buněčné úrovni, kdy je nejčastěji narušena mitóza a také indukce buněčnou smrt buněk (Pestka 2010).

3.1.8 ZEA

Mykotoxin zearalenon (zkráceně ZEA) se často vyskytuje v zrnech pšenice, ječmene a ovsa. S jeho výskytem jsou nejčastěji spojen druh *F. graminearum*, avšak jeho produkce jsou schopny i další druhy například *F. culmorum*, *F. verticillioides* a *F. oxysporum* (Mostrom 2016).

Má estrogenní účinky, na které zvláště citlivě reagují hospodářská zvířata, především prasata. Bylo prokázáno, že se zearalenon váže na estrogenní receptory a zabraňuje ovulaci. Přispívá tak k hormonálním problémům u hospodářských zvířat a je spojen s hypoestrogenními syndromy u lidí (Zinedine et al. 2007).

Nemoci, způsobené konzumací zrna napadeného mykotoxinem ZEA mají za následek velké ztráty v živočišné produkci způsobené vysokou a často i velmi rychlou úmrtností hospodářských zvířat (Valcheva & Valchev 2007).

IARC (mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny) zařadila tento mykotoxin do kategorie 3. Skupina 3 (nelze klasifikovat z hlediska své karcinogenity pro člověka) se vztahuje

na látky, pro které neexistuje dostatek důkazů o jejich karcinogenitě, nebo nejsou tyto data klasifikována (IARC 2016).

Můžeme se setkat s typicky nízkými koncentracemi mykotoxinu zearalenon přirozeně v polních podmínkách, avšak tyto koncentrace se zvyšují špatným skladováním, kdy zrno není dostatečně vysušené, nebo je skladováno za vlhkosti vyšší než 30-40 %.

Stejně jako mykotoxin DON je i ZEA tepelně stabilní, k rozkladu dochází za teplot vyšších než 180 °C, a tak se příležitostně může objevit v pečených cereálních výrobcích (Pitt 2014). Kontaminace obilných zrn zearalenonem byla dokumentována po celém světě, většinou v mírném pásmu v oblastech zvýšeného pěstování obilovin a kukuřice (Mostrom 2016).

3.1.9 Maskované mykotoxiny

Nejčastějšími producenty maskovaných mykotoxinů jsou mykotoxiny způsobené houbami rodu *Fusarium*. Vznikají reakcí hostitelské rostliny na přítomnost mykotoxinu. Jedná se o obranný mechanismus rostlin, kdy dochází ke konjugaci mykotoxinu s cukry, aminokyselinami nebo sulfátovými skupinami, aby se vytvořily polárnější deriváty. Takto konjugované mykotoxiny se nazývají maskované mykotoxiny, aby se zdůraznila skutečnost, že nejsou typicky objeveny standardními detekčními metodami, které se provádí při kontrolách v potravinářství a krmivářství (Berthiller at al. 2013).

Mezi nejčastěji vyskytující se maskované mykotoxiny patří:

- Deoxynivalenol-3-glukosid (D-3-G), který vzniká při enzymatické konjugaci deoxynivalenolu (DON) s glukózou. Běžně se nachází hlavně v obilovinách jako například ječmen, pšenice a kukuřice.
- Zearalenon-14-glukosid (ZEA-14-G) - Maskovaný metabolit zearalenonu (ZEA), který se vyskytuje hlavně v zrnech kukuřice a ječmene.
- Nivalenol-3-glukosid (NIV-3-G) - Maskovaný metabolit nivalenolu (NIV), který se vyskytuje v obilninách, jako jsou pšenice, ječmen a rýže (Berthiller at al. 2013).

Velmi často také dochází ke zvyšování koncentrace těchto mykotoxinů při procesu skladování. Stále však není zcela jasné, proč se tak děje. Někteří autoři tvrdí, že to má spojitost s procesem klíčení, jiní zase, že při průběhu skladování se vytvářejí enzymy, které mohou uvolňovat mykotoxin z nerozpustných forem. Dále také mohou vznikat konjugované mykotoxiny při zpracovávání potravin vlivem vysoké teploty (Mavungu Di et al. 2011).

Kapalinová chromatografie, kombinovaná s hmotnostní spektrometrií je nejpoužívanější metoda pro identifikaci maskovaných mykotoxinů. Lze využít i imunochemických metod, jako například ELISA, avšak jelikož se maskované mykotoxiny vyskytují společně s rodičovskými mykotoxiny, pro testování musí být použita velmi specifická protilátka. ELISA se běžně používá k detekci mykotoxinu DON v potravinách, avšak DON-3-G zkříženě reagoval se všemi komerčně dostupnými soupravami ELISA. To může vysvětlovat proč při hodnocení koncentrace mykotoxinů pomocí ELISA většinou vychází vyšší koncentrace než při použití LC-MS metody (Avantaggiato et al. 2008; Gallo et al. 2008). ELISA se tak nedoporučuje na testování maskovaných mykotoxinů a měla by být využívána pouze na jejich nepřímé testování (Mavungu Di et al. 2011)

O maskovaných mykotoxinech stále víme velmi málo a jsou předmětem vědeckého zkoumání. Stále nejsou zpřístupněna data ani o jejich toxicitě a karcinogenitě. Představují rozvíjející se problém, který začíná být více sledovaný. Je pravděpodobné, že konjugované mykotoxiny mají sníženou akutní toxicitu ve srovnání s jejich původními sloučeninami. Je to z toho důvodu, že konjugace je detoxikační proces a tím pádem by se tímto procesem měla toxicita oslabit. D-3-G je zatím nejvíce sledovaný maskovaný mykotoxin a v laboratorních testech zatím vychází méně účinný než jeho rodičovský mykotoxin DON. ZEA-14-G je druhý více sledovaný maskovaný mykotoxin, který má nižší estrogenní aktivitu než rodičovský mykotoxin ZEA (Poppenberger et al. 2003).

3.1.10 Detekce mykotoxinů

Mykotoxiny lze detekovat pomocí analytických technik, které se stále zdokonalují a vylepšují. Zjednodušuje se jejich používání, aby bylo rychlejší, avšak stále stejně spolehlivé. Stále více používané jsou rychlé screeningové techniky, které jsou praktické pro použití v terénu, dostupné, rychlé a nenáročné. Mezi hlavní používané techniky patří například ELISA, LFD, TLC a IR – spektroskopie. Další nově vznikající technologie jsou na bázi biosenzorů. Jsou to techniky velmi citlivé, selektivní a všestranně použitelné (Turner et al. 2015).

3.1.10.1 ELISA

Pro detekci mykotoxinů se běžně používá ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). Většina komerčních testů ELISA používá 96 jamkovou mikrotitrační destičku potaženou protilátkou (Logozzi et al. 2020).

Ukotvení (adsorpce nebo kovalentní navázání) protilátky na pevný nosič je základem ELISA techniky. Protilátky jsou značené enzymem, nejčastěji alkalickou fosfatázou, díky kterému dochází ke katalýze substrátu na barevný produkt.

Nejčastěji se používá sendvičová ELISA. Při používání této metody se antigen přidá do jamek a adsorbuje se na pevnou fázi. Destička se poté promyje a přidají se protilátky k enzymatickému značení. Vzniká reakce s antigenem a protilátky se na něj navážou. Dalším krokem je inkubace, promývání a přidání substrátu (chromoforu). Po první barevné změně (modráni) se přidává stop roztok, který celou reakci zastaví a dochází k druhé barevné změně – žloutnutí. Destička se poté okamžitě umístí do kolorimetrického snímače pro stanovení optické hustoty (Habuřtová et al. 2011).

Výhodou této techniky je rychlá a přesná analýza, která je poměrně lehká na provedení a není k ní potřeba množství speciálního vybavení. Na trhu se setkáme s velkým množstvím souprav, které jsou určeny pro stanovení nejvíce sledovaných a běžně se vyskytujících mykotoxinů. ELISA velmi dobře funguje na jednotlivé zástupce mykotoxinů, ale může se vyskytnout problém při velkém počtu detekovaných látek. Této reakci se říká zkřížená reakce při stanovení mykotoxinů a detekují se mykotoxiny příbuzné sledovanému mykotoxinu (například maskované mykotoxiny). Kvůli tomu se soupravy používají jednorázově a pouze na jeden mykotoxin (Turner et al. 2015).

4 Metodika

4.1 Materiál

V práci se hodnotilo 283 odrůd a linií ječmene jarního z hlediska koncentrace mykotoxinu DON v znu. Soubor byl rozdělen do tří skupin podle typu materiálu, přítomnosti pluch a řadovosti. Skupina hodnocených materiálů obsahovala 99 novošlechtění, 121 odrůd z genové banky a 63 zástupců z řad nesladovnických ječmenů jarních. Odrůdy z genové banky byly velmi různorodé jak v období registrace, tak variabilitou provenience. U všech tří skupin se dále dělil materiál podle řadovosti a typu klasu. Ječmeny dvouřadé se vyskytovaly více než ječmeny šestiřadé. Z větší části měly zastoupení ječmeny pluchaté než ječmeny nahé. Všechny odrůdy a linie hodnocené v pokusu i s jejich vlastnostmi jsou vypsány v tabulce č.1 v příloze.

Osivo bylo použito v rámci projektu č. TN01000062 (Biotechnologické centrum pro genotypování rostlin – dílčí projekt Ječmen). Bylo zajištěné Agrotestem fyto s.r.o., koordinátorem dílčího projektu Ječmen.

Pokusný pozemek byl pohnojen NPK (45:45:45). Výsev v roce 2019 proběhl v termínu 19. – 20. března, v roce 2020 během 17.-18. března a v roce 2021 se prováděl 26. března. Selo se do hnízd, kdy hnízda se zkoušenými materiály byla vyseta proti sobě (infikovaná a neinfikovaná varianta) a mezi nimi je vysetý ochranný pás vyšší odrůdy pšenice jarní, který slouží jako ochrana v průběhu inokulace. V roce 2019 a 2020 proběhlo první květnový týden herbicidní (Agritox 1,25 l/ha a Starane 0,4 l/ha) a insekticidní (Nexide 0,08 l/ha) ošetření. V roce 2021 herbicidní ošetření proběhlo již 29. dubna a byl použit přípravek Mustang forte.

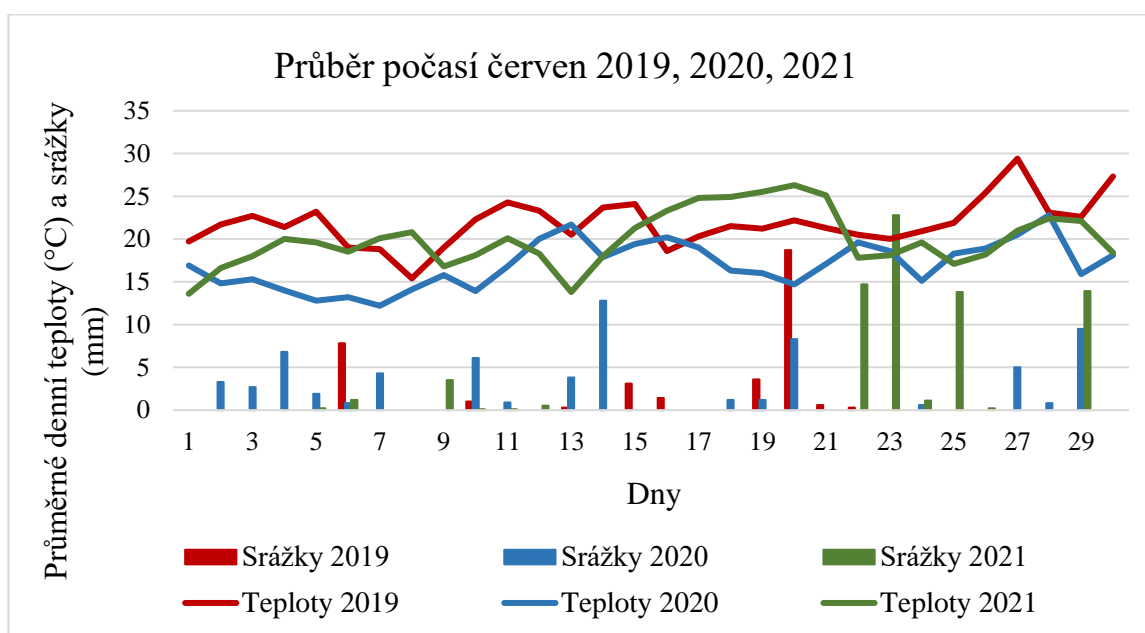


Obrázek 2: Výsev do hnízd. Foto autorka

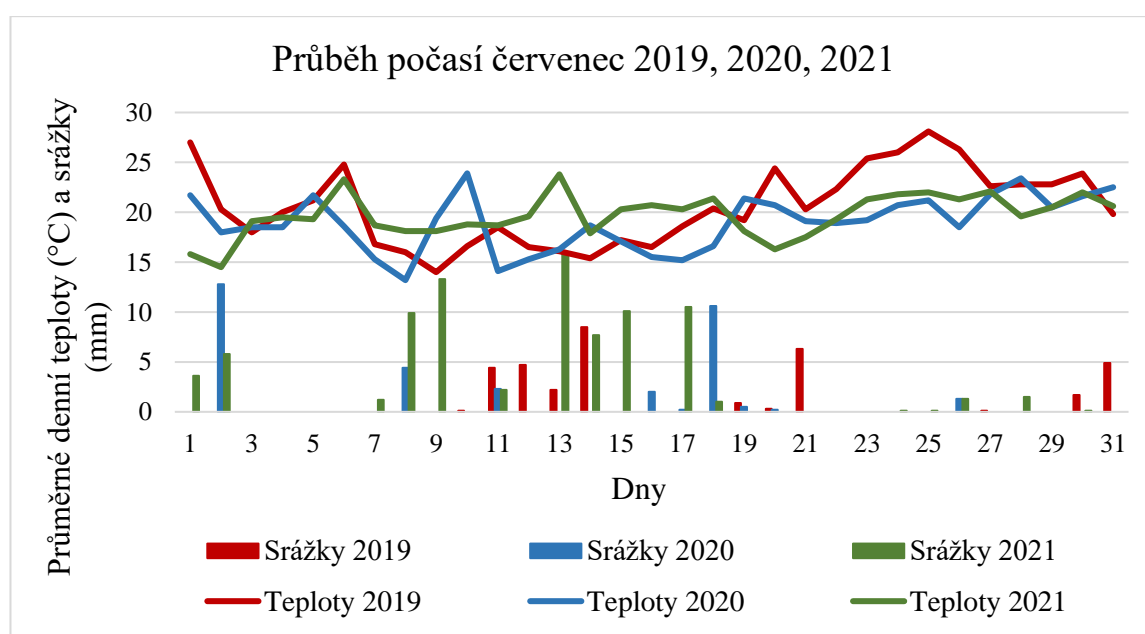
4.2 Průběh počasí

Pokus může být podstatně ovlivněn průběhem počasí. Vysoká vlhkost vzduchu a příznivé teploty mohou zrychlit růst a šíření choroby a naopak sucho, hlavně v době květu, chorobu zpomaluje. Závlaha byla zajištěna po celou dobu pokusu, avšak k šíření dopomáhají i srážky a ranní rosy. Nejvhodnější jsou mírné teploty bez výskytu extrémních teplot, tropických dnů a bez rychlých změn teplot. Suchý a horký vzduch může šíření patogenu zastavit.

Grafy č. 1 a 2 znázorňují průběh počasí v době infekce a v období růstu obilnin na poli. Průměrná teplota v červnu 2019 byla 21,8 °C a v červenci 20,5 °C. V roce 2020 byla červnová průměrná teplota 17 °C a v červenci 19 °C, a nakonec v roce 2021 byla průměrná červnová teplota 20 °C a v červenci 19,7 °C.



Graf č.1: Průběh počasí červen 2019, 2020 a 2021



Graf č.2: Průběh počasí červenec 2019, 2020 a 2021

4.3 Příprava inokula, inokulace a symptomatické hodnocení

Jako inokulum se využívají infikovaná zrna, která se navázila a vložila do baňky s destilovanou vodou. Tato směs se pak několik minut míchala na magnetické míchače. Průběžně se kontrolovala koncentrace konidií v suspenzi a podle potřeby se koncentrace upravila buď přidáním destilované vody nebo přidáním infikovaných semen. Po dodání destilované vody nebo naopak semen se směs opět na chvíli zamíchala. Konečná koncentrace konidií byla $0.8 \times 10^7/\text{ml}$ destilované vody. Pro inokulum lze použít zrna infikovaná více druhy rodu *Fusarium*. Nejčastěji se však používá k inokulaci směs *F. graminearum* a *F. culmorum*, protože se jedná o hlavní producenty mykotoxinu DON (Tvarůžek et al. 2012).

Inokulace probíhala v roce 2019 v termínu od 3. do 20. června, v roce 2020 v období 28. května do 30. června a v roce 2021 během 11. června až do 29. června. Samotný termín inokulace není pevně daný, protože se stanovuje podle stavu porostu a jednotlivých odrůd. Provádí se ve fázi 65 – střed kvetení, kdy je rostlina nejvíc náchylná, aby byla podpořena infekce a její šíření. Rostliny jsou tak více napadené a obsahují vyšší koncentraci mykotoxinu DON než přirozeně kontaminované vzorky a tím se lépe hodnotí odrůdová rezistence.

Byla použita suspenze *F. culmorum* (při dané koncentraci konidií $0.8 \times 10^7/\text{ml}$). Od každého zástupce se z rostliny vybralo 10 klasů a na ně byla rovnoměrně tato suspenze nastříkaná pomocí ručního postřikovače. Poté se inokulované klasy na 24 hodin zabalily do polyethylenového sáčku, aby byly chráněny proti dešti, větru a zavlaze a nešlo ke smytí inokula. Porost se sledoval 14., 21. a 28. den po inokulaci a provádělo symptomatické hodnocení. Konečný výsledek symptomatického hodnocení se stanovil po ukončení infekční doby (28. – 35. den po inokulaci). Byla použita devítibodová stupnice ÚKZUZ, která vychází z plochy napadení klasu.

Stupnice hodnocení:

9 bodů – napadení pokrývá méně než 5 % klasu, klas není zbarven

8 bodů – 5–17 % plochy klasu je napadeno

7 bodů – 18–30 % plochy klasu je napadeno

6 bodů – 31–43 % plochy klasu je napadeno

5 bodů – 44–56 % plochy klasu je napadeno

4 body – 57–69 % plochy klasu je napadeno

3 body – 70–82 % plochy klasu je napadeno

2 body – 83–95 % plochy klasu je napadeno

1 bod – více jak 95 % klasu je viditelně napadeno, výrazná změna barvy celého klasu.

Skóre vizuálních příznaků se udává z průměru všech tří hodnocení (Chrpová, 2015).

4.4 Stanovení koncentrace mykotoxinu DON

Koncem července, když bylo obilí zralé, se klasy ručně sklídily a zrno bylo vymláčeno na stacionární mlátičce. Mláčení probíhalo za bezvětří a za sucha, aby zrna neulétla, nebo nepřišla do kontaktu s vodou. Hlavně se jednalo o infikovaná zrna, která jsou zpravidla lehčí než zrna zdravá, a tak by mohla odletět. Pokud by došlo k ovlhčení, mohlo by to způsobit růst mycelia při skladování zrn. Ručně se pak zrno probralo a vyčistilo od zbytků plev, zeminy a úlomků zrn. Poté se zrno ještě důkladně vyčistilo před vážením, kdy se dbalo, aby byla navážena spočítaná jen zrna celá, a to samé platilo před vložením zrn do počítacího přístroje, kde by fragmenty zrn mohly být započítány mezi celá zrna.

Pomocí přístroje na počítání zrn se zjistil počet zrn ve vzorku (zrno z 10 infikovaných klasů), vážením se zjistila se hmotnost vzorku a pomocí vzorečku se zjistila hmotnost tisíce zrn. Stanovila se redukce hmotnosti zrn tím, že se vypočítal hmotností rozdíl zdravých a infikovaných zrn.

Nakonec se zrna rozdrtila v ručním mlýnku, kdy se všechny vzorky mlely 20 sekund. Do odměrných baněk, které byly označené číslem vzorku, aby nedošlo k pomíchání vzorků, se navážilo 2,5 g vzorku a přidalo se 50 ml destilované vody. Odměrné baňky se pak na 3 minuty vložily do třepačky. Jelikož ve vzorku byly usazeniny, musel se vzorek přefiltrovat, aby se pak dalo pracovat s čistou tekutinou a nedošlo například k ucpaní pipety při pipetování na ELISA destičku, nebo jiným reakcím, které by mohly tento postup znehodnotit. Čistý, přefiltrovaný vzorek se poté pipetou nanesl do menších zkumavek a z nich byl opět pipetován už na ELISA destičku. Používaly se standardy a činidla RIDASCREEN® DON od dodavatele R-biopharm. Dále se postupovalo podle návodu k destičce ELISA, kdy se v mezikrocích a s trojím promýváním postupně nanesla protilátka, substrát (chromofor) a stop roztok. Poté se destička rychle vložila do spektrofotometru a podle zbarvení se vyhodnotila koncentrace mykotoxinu DON ve vzorcích.

4.5 Statistické vyhodnocení

Výsledky byly zpracovány statistickým programem Statistica 12. Pro statistické hodnocení akumulace mykotoxinu DON u hodnocených skupin v různých ročnících byla využita analýza rozptylu (ANOVA).



Obrázek č. 3: 10 vybraných klasů připravených k inokulaci. Foto autorka



Obrázek č. 4: Zakryté klasy po inokulaci. Foto autorka

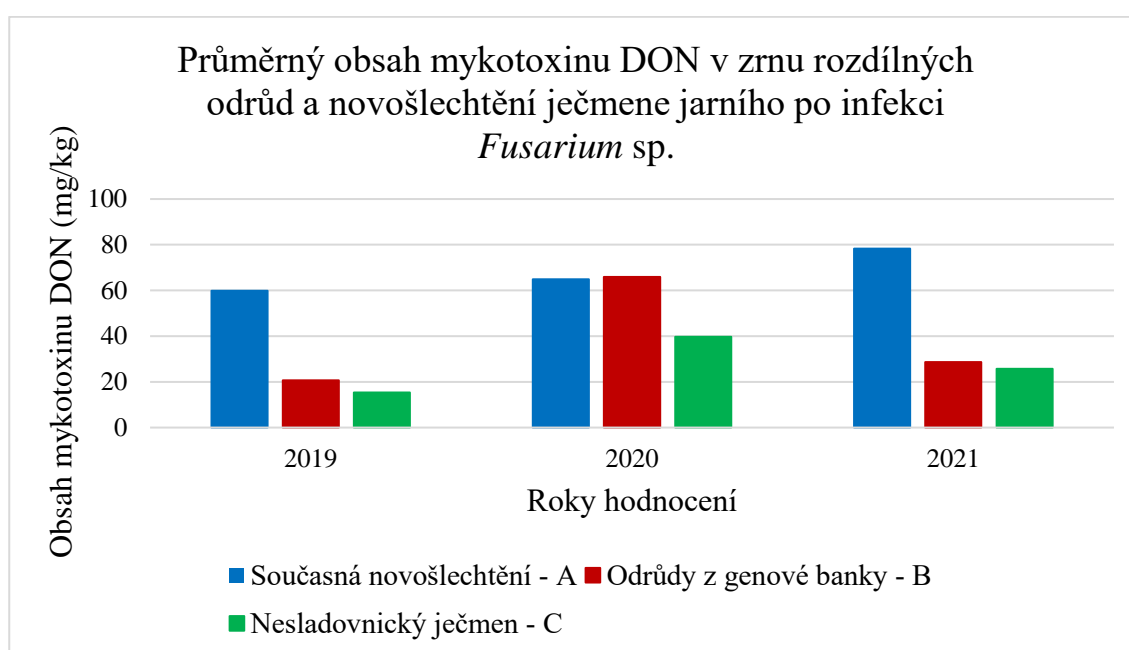
5 Výsledky

V práci se sledovaly výsledky z let 2019, 2020 a 2021. Porovnával se obsah mykotoxinu DON u různých materiálů (новоšlechtění, genová banka, nesladovnický ječmen), u klasů dvouřadých a šestiřadých a také u klasů nahých a pluchatých. Výsledky jsou graficky znázorněny v následujících grafech.

Nejvyšší koncentrace mykotoxinu DON v roce 2019 byla 165,7 mg/kg u novošlechtění 2/43, v roce 2020 373,3 mg/kg u odrůdy Trebi a v roce 2021 bylo naměřeno 235,46 mg/kg u novošlechtění 17/605/60. Je tedy patrné, že v roce 2020 byly nejvyšší obsahy mykotoxinu DON, a to i o 100 mg/kg vyšší než nejvyšší hodnoty naměřené v jiných ročnících. Nejnižší koncentrace byly v roce 2019, kdy bylo velké zastoupení odrůd s nulovou koncentrací mykotoxinu (CDC Rattan, Goldmarker, Izmir 9 linie 2, Namoi...), kdy některé odrůdy patřily mezi odolné odrůdy, avšak bylo zde zastoupení odrůd, které nespadały do odrůd odolných. V roce 2020 byla pouze jedna odolná odrůda s nulovou akumulací (Opavsky Kneifl) avšak bylo velké množství odrůd s koncentrací mykotoxinu pod 1 mg/kg. V roce 2021 nebyla ani jedna odrůda s koncentrací 0 mg/kg a vyskytovalo se jen velmi málo zástupců s koncentrací pod 1 mg/kg.

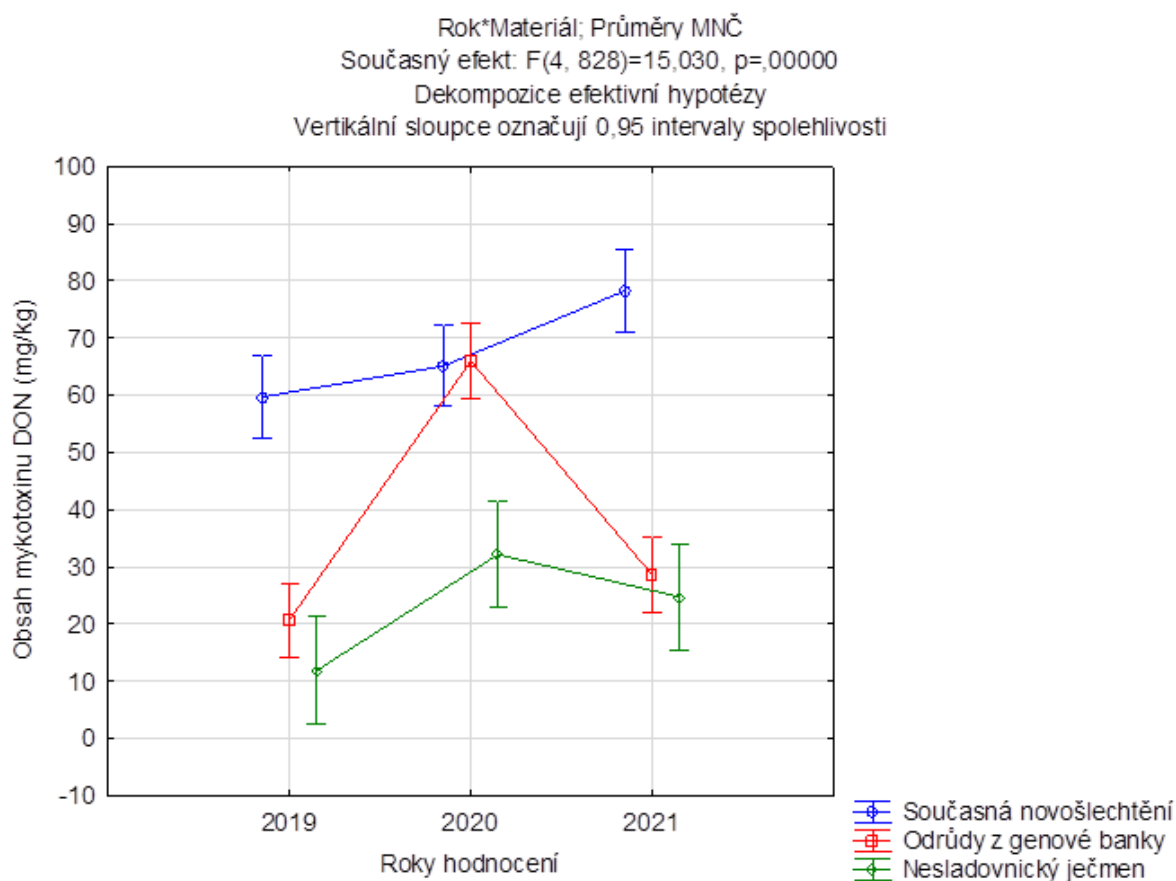
5.1.1 Výsledky hodnocení zkoušených materiálů

Celkově se jako nejnáchylnější projeví zástupci skupiny A – současná novošlechtění. Každý rok měli tito zástupci nejvyšší průměrný obsah mykotoxinů a v roce 2019 a 2021 vysoce převyšovali ostatní skupiny. Skupina B – odrůdy z genové banky měla vysoké obsahy mykotoxinu DON hlavně v roce 2020, kdy její zástupci měli o trochu vyšší akumulaci mykotoxinu než skupina A. Ostatní roky měla skupina B poměrně nízké koncentrace mykotoxinu, které se pohybovaly okolo 20 mg/kg. Skupina C – nesladovnické ječmeny se projevila jako nejméně náchylná. I v roce 2020, kdy ostatní skupiny měly vysokou akumulaci mykotoxinu, která se pohybovala nad 60 mg/kg, skupina C měla o více jak 20 mg/kg méně. Z grafu vyplývá, že rok 2020 byl rokem, kdy všechny skupiny měly nejvyšší akumulaci mykotoxinu DON v průběhu tří let.



Graf č. 3: Průměrný obsah mykotoxinu DON rozdílných odrůd a materiálů ječmene jarního po infekci *Fusarium* sp.

Hodnocení bylo podpořeno i statistickou analýzou, kdy se provedla dvoufaktorová ANOVA. Hodnota p byla vždy nižší než 0,05, a tím pádem byl prokázán statisticky významný rozdíl jednotlivých faktorů. Zjistil se významný vliv jak ročníku, tak materiálu i jejich interakce.



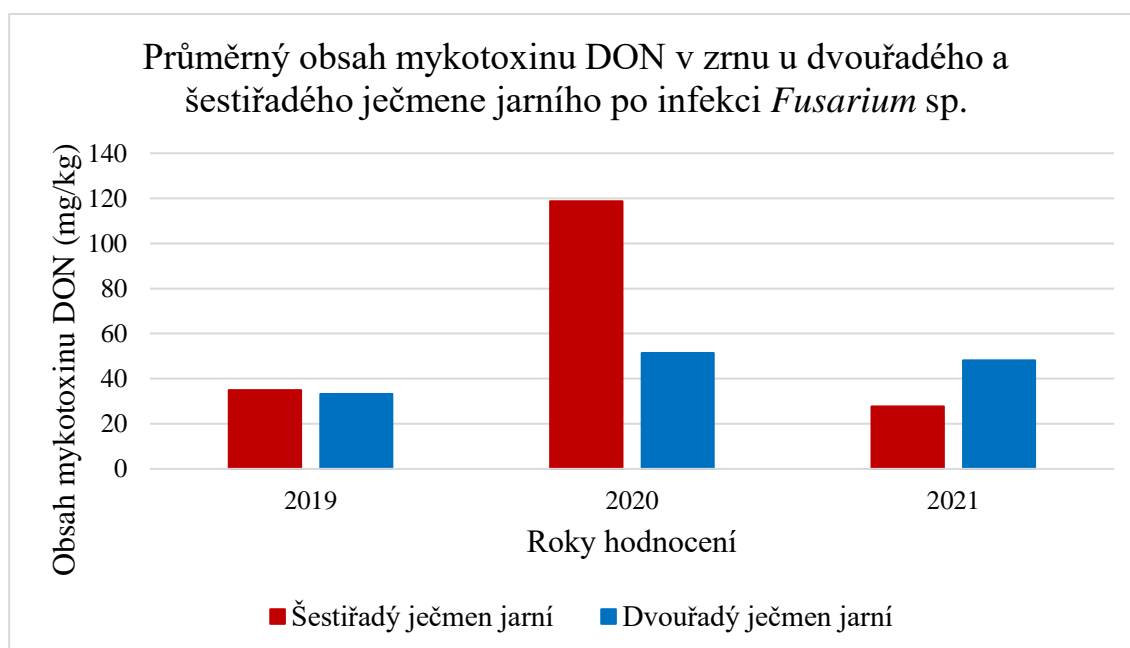
Graf č. 4: Statistické hodnocení vlivu ročníku na obsah mykotoxinu DON u hodnocených materiálů

Tabulka 2: Jednorozměrné testy významnosti pro množství mykotoxinu DON u hodnocených materiálů

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro DON (stat) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	1407669	1	1407669	1070,654	0,000000
Rok	71048	2	35524	27,019	0,000000
Materiál	254170	2	127085	96,659	0,000000
Rok*Materiál	79042	4	19760	15,030	0,000000
Chyba	1088634	828	1315		

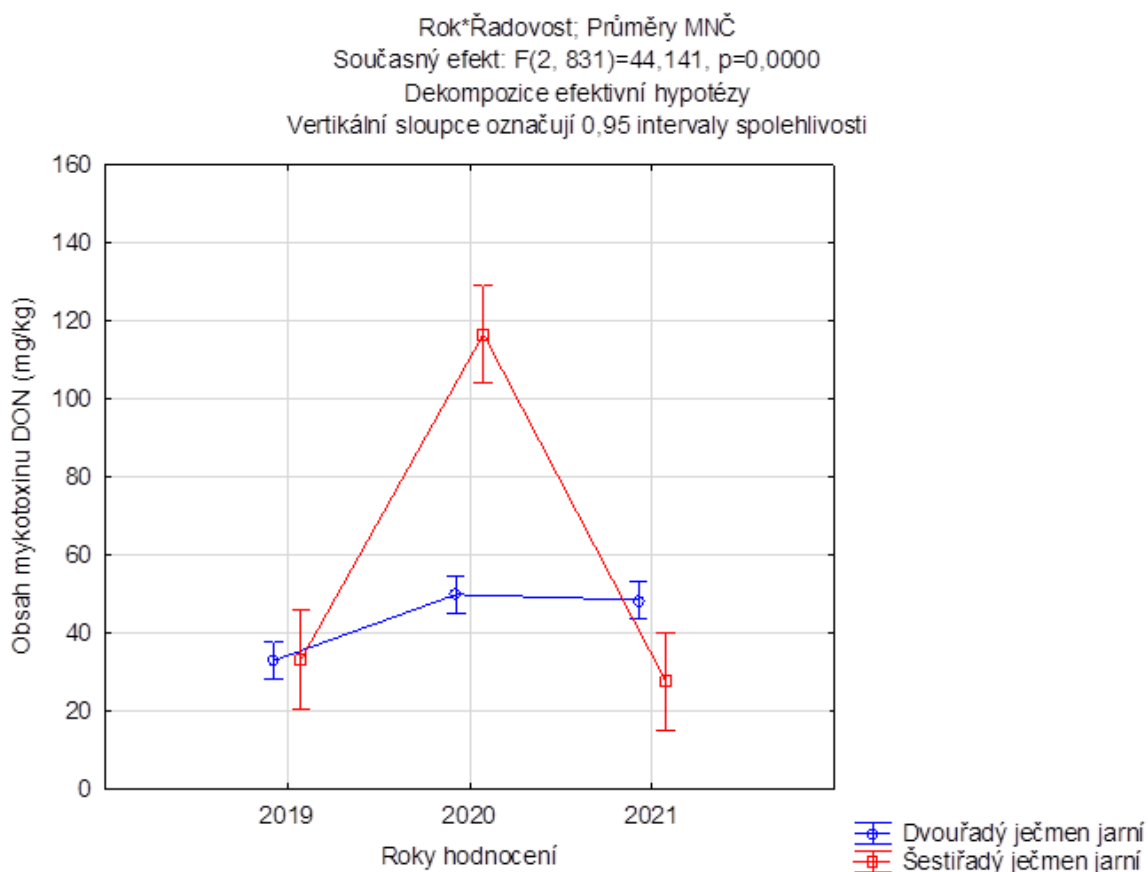
5.1.2 Výsledky hodnocení podle počtu řad

Šestiřadý jarní ječmen měl vyšší průměrné zastoupení mykotoxinu než dvouřadý ječmen jarní. Jeho průměrná koncentrace mykotoxinu v roce 2020 byla 120 mg/kg. V roce 2021 měl ječmen šestiřadý průměrnou koncentraci mykotoxinu DON okolo 50 mg/kg a v roce 2019 měl nejnižší průměrnou koncentraci a to okolo 30 mg/kg. Ječmen dvouřadý měl nejnižší koncentraci mykotoxinu DON v roce 2019 (35 mg/kg). V roce 2020 a 2021 měl skoro stejné průměrné koncentrace mykotoxinu DON, a to okolo 50 mg/kg. Z grafu tedy vypovídá, že vliv ročníku byl na dvouřadý ječmen velmi nízký a průměrné koncentrace mykotoxinu byly všechny roky podobné (pohybovaly se mezi 35-50 mg/kg). Oproti tomu ječmen šestiřadý byl ročníkem výrazněji ovlivněn a v grafu je vidět nárůst průměrné koncentrace DON v roce 2020.



Graf č. 5: Průměrný obsah mykotoxinu DON u dvouřadého a šestiřadého ječmene jarního po infekci *Fusarium* sp.

Hodnocení bylo podpořeno i statistickou analýzou, kdy se provedla dvoufaktorová ANOVA. Hodnota p byla vždy nižší než 0,05, a tím pádem byl prokázán statisticky významný rozdíl jednotlivých faktorů. Zjistil se významný vliv jak ročníku, tak řadovosti i jejich interakce.



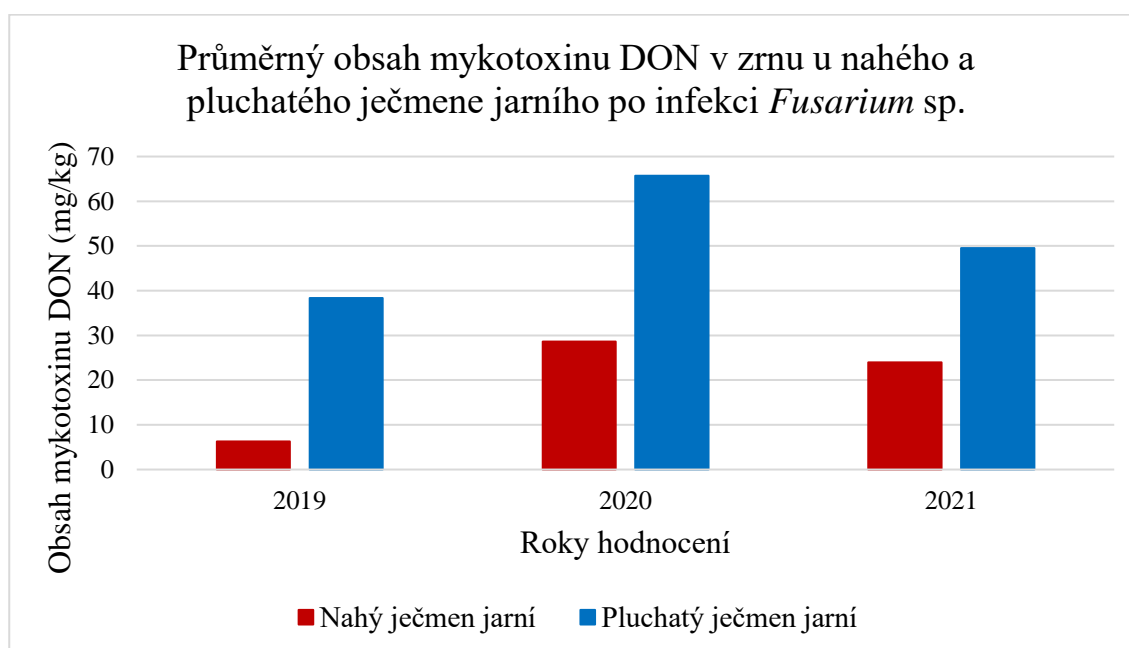
Graf č.6: Statistické hodnocení vlivu ročníku na obsah mykotoxinu DON u ječmenů dvouřadých a šestiřadých

Tabulka 4: Jednorozměrné testy významnosti pro množství mykotoxinu DON u ječmenů dvouřadých a šestiřadých

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro DON (stat) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	1015808	1	1015808	667,4699	0,000000
Rok	196485	2	98242	64,5533	0,000000
Řadovost	22810	1	22810	14,9879	0,000117
Rok*Řadovost	134354	2	67177	44,1409	0,000000
Chyba	1264681	831	1522		

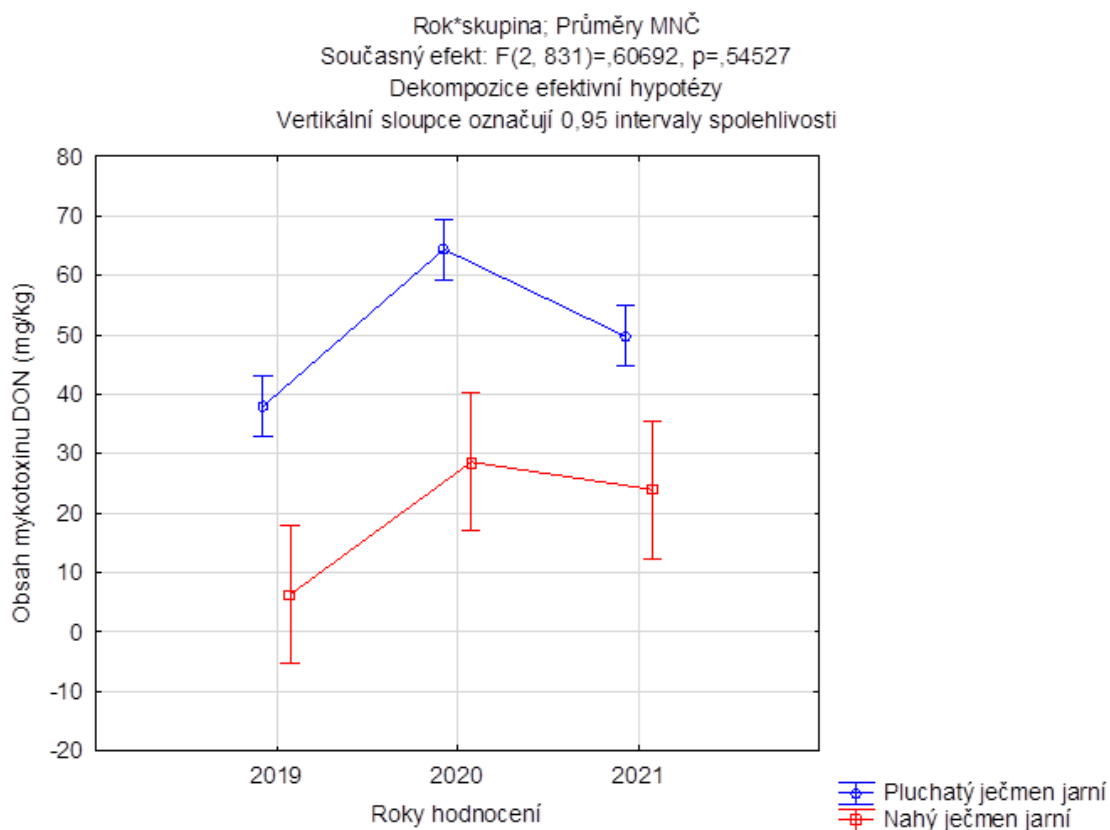
5.1.3 Výsledky hodnocení podle přítomnosti pluch

Pluchatý ječmen jarní vykazoval daleko vyšší koncentrace mykotoxinu než ječmen nahý a po všechny tři roky sledování měl koncentrace mykotoxinu o desítky mg/kg vyšší než ječmen nahý. Jako u předešlých dvou grafů je vidět vliv ročníku, kdy v roce 2020 byla jak u ječmene nahého, tak pluchatého nejvyšší akumulace mykotoxinu. Celkově se koncentrace mykotoxinu DON u pluchatého ječmene pohybovala mezi 40-65 mg/kg. Ječmen nahý měl daleko nižší průměrnou koncentraci DON, a v roce 2019 ji měl dokonce pod 10 mg/kg. Koncentrace mykotoxinu se zvýšila v roce 2020 ke 30 mg/kg, avšak v roce 2021 opět klesla a pohybovala se okolo 20 mg/kg.



Graf č. 7: Průměrný obsah mykotoxinu DON u nahého a pluchatého ječmene jarního po infekci *Fusarium* sp.

Hodnocení bylo podpořeno i statistickou analýzou, kdy se provedla dvoufaktorová ANOVA. Hodnota p byla vždy nižší než 0,05, pro faktory rok a pluchatost, a tím pádem byl prokázán statisticky významný rozdíl jednotlivých faktorů. Pro interakci rok – pluchatost byla hodnota p vyšší než 0,05.



Graf č.8: Statistické hodnocení vlivu ročníku na obsah mykotoxinu DON u ječmenů pluchatých a nahých

Tabulka 6: Jednorozměrné testy významnosti pro množství mykotoxinu DON u ječmenů nahých a pluchatých

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro DON (stat)				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	560171	1	560170,5	355,2353	0,000000
Rok	45471	2	22735,4	14,4178	0,000001
Pluchatost	109527	1	109527,4	69,4574	0,000000
Rok*skupina	1914	2	957,1	0,6069	0,545266
Chyba	1310404	831	1576,9		



Obrázek č. 5: Napadení dvouřadého ječmene jarního houbami rodu *Fusarium*. Foto autorka



Obrázek č. 6: Napadení šestiřadého ječmene jarního houbami rodu *Fusarium*. Foto autorka

6 Diskuse

Průběh počasí

Nejsušší byl rok 2019, v roce 2020 bylo o poznání více srážek (hlavně v průběhu června) avšak rok 2021 byl na srážky nejbohatší, a to především na konci června a mezi 1. a 2. polovinou července. Můžeme tedy říct, že v roce 2021 byla v těchto obdobích vyšší vzdušná vlhkost oproti ostatním rokům. Avšak jak už bylo zmíněno nejen vzdušná vlhkost může pomoci infekci. K napadení, růstu a šíření choroby musí být vhodná souhra podmínek, a to jak vlhkost vzduchu, tak vhodná teplota. Z tohoto pohledu se jako nejvhodnější rok pro rozvoj fuzarióz jeví rok 2020, kdy sice srážky nebyly tak velké jako 2021, ale bylo méně tropických dnů a tím pádem méně dnů s nízkou vlhkostí vzduchu. V roce 2019 se jak na konci června, tak na konci července teploty vyšplhaly až k 25 °C. V roce 2021 zase byla série velmi teplých dnů v druhé polovině června, kdy průměrné denní teploty neklesly pod 25 °C. Tyto velmi teplé tropické dny mohly výrazně zpomalit vývoj choroby. Inokulace se neprováděla za deště a ve větru.

Výsledky hodnocení podle materiálu

Skupina s nejnižším obsahem mykotoxinu DON byla skupina nesladovnických ječmenů. Může za to fakt, že velká část odrůd a materiálů v této skupině má vyšší odolnost k fuzarióze klasu zřejmě spojenou s nepřítomností pluch. Odolnost u této skupiny byla sledována i při symptomatickém hodnocení a hodnocením redukce hmotnosti zrna, kdy i při tomto hodnocení tyto ječmeny vykazovaly velmi nízké jak napadení, tak redukci hmotnosti zrn (Lišková, 2021). Pěstování odolných odrůd dává pěstiteli možnost použití menšího množství postřiků. Stále je však důležité nepodceňovat preventivní způsoby ochrany.

Odrůdy z genové banky mají v rámci sledované skupiny průměrné výsledky. Jedná se o velmi různorodou skupinu se zástupci jak náchylnými, tak velmi odolnými. V roce 2020 koncentrace mykotoxinu mírně vzrostla vlivem velmi příznivého ročníku pro vývoj a šíření fuzariózy klasu. Celkově se o této skupině dá říct, že to jsou různorodé odrůdy, které mohou být napadány při příznivých podmínkách pro patogena a v jejich zrnech se může vyskytovat mykotoxin DON i ve vyšších koncentracích. Záleží však na odrůdě. Pokud by chtěl někdo tyto odrůdy pěstovat, měl by určitě vybrat odolnější zástupce a sledovat vývoj počasí v daném ročníku. Při příznivých podmínkách pro napadení by bylo vhodné aplikovat preventivní postřik a celý vývoj plodin dodržovat správnou agrotechniku a sledovat zdravotní stav rostlin. Mělo by se zvážit využití těchto odrůd jako zdrojů ke šlechtění. Mohou zde být odrůdy odolnější vůči klimatickým změnám, dlouhodobému suchu nebo i houbovým chorobám. Czembor (2022), který se svým týmem zkoumal zdroje z Polské genové banky na rezistence k padlí a rzím, zjistil poměrně velkou odolnost těchto odrůd a připouští, že s počátkem moderního šlechtění nebyla dostatečně využita jejich genetická diverzita.

Zástupci současných novošlechtěných ječmenů jarních měli všechny tři roky nejvyšší obsahy mykotoxinu DON ze všech tří sledovaných skupin. Je to dáno tím, že v této skupině bylo dost zástupců náchylných k fuzariózám klasu. Není zde tak viditelný vliv ročníku, protože v roce 2021, který nebyl tak příznivý pro napadení jako rok 2020, byla průměrná koncentrace

DON dokonce vyšší. Byl sledován stoupající trend zvyšujícího se obsahu mykotoxinu DON každý rok. Při symptomatickém hodnocení z let 2019 a 2020 (Lišková 2021) je patrné, že zástupci si jsou velmi podobní, protože reakce na napadení byla u více jak poloviny zástupců stejná, a to vysoký výskyt zástupců v bodě 3, 3,5 a 4 (57-82 % plochy klasu napadeno). Při polních pokusech byly naměřeny vysoké hodnoty mykotoxinu, zástupci současných novošlechtěných odrůd a linií měli dokonce nejvyšší koncentrace mykotoxinu DON ze všech sledovaných odrůd a linií. Tyto výsledky ukazují, že současná novošlechtění nemají takovou odolnost, jaká by byla potřebná při pěstování sladovnického ječmene. Vysoký obsah mykotoxinu může významně ovlivnit sladovnický proces, a tak se jeho koncentrace u sladovnických odrůd přísně sleduje. Také by jejich vysoká náchylnost k fuzariózám klasu mohla být problém při pěstování monokultur s nižším využíváním chemie či nedostatečnou agrotechnikou (minimalizace), protože by zde byl vyšší infekční tlak patogenu. To uvádí i Váňová et al (2006), v jejichž pokusech se sledovala zhoršená kvalita sladovnického ječmene při nedostatečném střídání plodin a mělké orbě. Má na tom podíl i vyšší výskyt fuzarióz klasu za těchto podmínek. Na druhou stranu nejvyšší průměrná koncentrace mykotoxinu DON v zrně byla naměřena v roce 2021 (do 80 mg/kg), což je sice vysoká koncentrace, avšak při umělé inokulaci bývá koncentrace DON vyšší než při přirozeném napadení rostlin patogenem. Tato skupina obsahuje odrůdy, které jsou odolné k fuzariózám klasu, avšak je zde i plno odrůd náchylných, které se nedoporučují pěstovat, pokud chceme pěstovaný ječmen využít ke sladování, anebo nemůžeme zajistit dostatečnou preventivní a fungicidní ochranu rostlin.

Výsledky hodnocení podle počtu řad

Dvouřadý ječmen jarní měl všechny roky daleko nižší obsah mykotoxinu DON než ječmen šestiřadý. Je zde vidět vliv ročníku hlavně u ječmene šestiřadého, kdy v roce 2020 měl vysoké koncentrace mykotoxinu DON, a to 120 mg/kg. Ostatní roky měly zástupci šestiřadých ječmenů o něco nižší průměrné koncentrace mykotoxinu, a to v roce 2019 okolo 40 mg/kg a v roce 2021 okolo 30 mg/kg. Za vysokou koncentrací mykotoxinu v roce 2020 může hlavně stavba klasu, kdy ječmen šestiřadý má klas hustší a tím pádem méně vzdušný než ječmen dvouřadý. Počasí v průběhu roku 2020, které vykazovalo větší počet mírných srážek po celý měsíc, bylo ideální pro zachování vlhkosti v těsném klasu ječmene šestiřadého. Klas, na kterém se drží vlhkost, poskytuje nejlepší podmínky jak pro napadení patogenem, tak pro jeho šíření. Patogen se může šířit po celé délce klasu až do zrn a způsobuje silnější napadení. Toto tvrzení odpovídá mým výsledkům (Lišková 2021), kdy symptomatické hodnocení z roku 2020 ukázalo, že více jak třetina zástupců ječmene šestiřadého měla napadení klasu vyšší než 70 % povrchu klasu. Na druhou stranu v roce 2021 měl ječmen šestiřadý dokonce nižší koncentraci DON než ječmen dvouřadý. Rok 2021 byl sice poměrně vlhký, ale měl také množství tropických dnů, kdy se vlivem stále vysoké teploty neudržel klas dlouho ovlhčený a tím bylo omezeno šíření patogenu.

Dvouřadý ječmen jarní se může jevit jako vhodnější varianta pro pěstování, protože není tak ovlivněn vývojem počasí jako ječmen šestiřadý. Jeho uspořádání zrn v klasu mu dává formu pasivní rezistence. Dnes je více pěstovaný než ječmen šestiřadý a není to jen díky této formě pasivní rezistence k napadení fuzariózou klasu, ale také protože má lepší využití ve sladovnictví

a potravinářství. Většina sladovnických ječmenů patří mezi dvouřadé varianty a šestiřadé, pokud jsou pěstovány, jsou využívány především jako krmiva. Toto pravidlo platí hlavně v konzervativní Evropě, avšak v Severní Americe začíná být trend sladování dvouřadého a šestiřadého ječmene jarního dohromady, protože šestiřadé varianty se lépe přizpůsobily podmínkám regionů a jejich produkce je jednodušší. Také reagují na snížení kvality nově šlechtěných dvouřadých ječmenů, kdy často nemají vyšší kvalitu než ječmen šestiřadý (Schwarz and Horsley, 2014).

Ať už budeme používat ke sladování tradiční ječmen dvouřadý samotný, nebo budeme po vzoru Ameriky používat obě varianty a do sladovnických směsí je míchat v různém poměru, je nutné sledovat obsah mykotoxinu v zru. Dnes je na trhu dobrý výběr rezistentních sladovnických odrůd, které by měly zaručit nižší obsahy mykotoxinu v zru, avšak je důležité nezapomínat na preventivní i kurativní prostředky ochrany proti fuzarióze klasu.

Výsledky hodnocení podle typu zrna

Ječmen pluchatý dopadl v hodnocení koncentrace mykotoxinu DON hůř než ječmen nahý. Zároveň však můžeme podotknout, že nejvyšší průměrná koncentrace mykotoxinu DON u pluchatého ječmene byla okolo 65 mg/kg, což u umělé inokulace není tak vysoká hodnota. To podporují i výsledky symptomatického hodnocení a redukce hmotnosti zrna z roku 2019 a 2020, kdy Lišková (2021) zjistila, že i když symptomatické hodnocení ukazovalo vysoké napadení a klasy byly napadeny i z více jak 50 %, redukce zrna nebyla tak znatelná, jak by se dalo podle napadení předpokládat. Je tedy vidět, že přítomnost pluch má ochranný efekt a zabraňuje akumulování mykotoxinu v zru. Po sklizni se ve většině případů zru z pluch vymlátí, nebo vyloupe a nedochází tak k další infekci. U ječmenů nahých není plucha vůbec vyvinuta a není tak využit ochranný efekt pluchy, avšak velká část zástupců této skupiny patří mezi odolné odrůdy. Ječmen nahý se tak jeví jako velmi dobrý typ ječmene k pěstování, protože je zde mnoho rezistentních odrůd na výběr, a navíc po sklizni, kdy dochází k dalšímu zpracování zrn můžeme vynechat celý proces zbavování se pluch (např. mlácení a loupání), na rozdíl od ječmene pluchatého.

Sladovnický průmysl preferuje tradiční pluchatý ječmen, kdy jeho pluchy slouží jako filtrační pomůcka při scezování. Avšak je mnoho autorů např. Agu et al. (2012) kteří řeší budoucí využití ječmene nahého ve sladovnictví, kdy by se mohla plně využít jeho odolnost k fuzariózám klasu a nízká akumulace mykotoxinu v zru. Ve srovnání s pluchatým ječmenem má ječmen nahý vyšší obsah bílkovin, které se u ječmene pluchatého vyskytují pouze v pluše a jen v menším množství v zru. Pokud tedy u ječmene pluchatého nekonzumujeme i pluchu, ztrácíme tak velké množství bílkovin. Navíc má ječmen nahý vyšší koncentrace beta-glukanu, což je velmi cenná látka u takzvaných zdravých potravin. Má tedy nejen vysoký obsah vlákniny, obsahuje důležité minerály a vitamíny a také má nižší obsah tuku. Dnes jsou velmi oblíbené tzv. zdravé potraviny, které se doporučují konzumovat lidem s např. civilizačním nebo kardiovaskulárním onemocněním, a tak má ječmen nahý perspektivu v tomto rozvíjejícím se odvětví (Shaveta et al. 2019).

7 Závěr

Při hodnocení koncentrace mykotoxinu DON v zru vyšla skupina nesladovnických ječmenů jako nejvíc odolná. Může za to hlavně fakt, že to je skupina s mnoha odolnými zástupci. Tyto odrůdy jsou pěstovány hlavně pro potravinářské a krmivářské využití. Zástupci z genové banky byli velmi různorodí. Část z nich vykazuje rezistenci k fuzarióze klasu, avšak část z nich patří mezi náchylné odrůdy. Můžeme tedy říci, že se tyto jejich vlastnosti zprůměrovaly a skupina představovala střed mezi nesladovnickými a sladovnickými odrůdami. Bylo by zajímavé zvážit využití rezistentních odrůd z genové banky pro účely šlechtění nových odrůd odolných k fuzariózám. Skupina současných novošlechtění byla skupinou nejvíce náchylnou k napadení. Všechny roky měli její zástupci vysoké koncentrace mykotoxinu DON. Velká část zástupců této skupiny patřila mezi náchylné odrůdy, které tedy mohou velmi špatně reagovat na napadení fuzariózami klasu, avšak mají dobré sladovnické využití. Je tedy jasné, že při pěstování těchto odrůd musí být dodržena všechna ochranná opatření, aby se zajistila nízká akumulace mykotoxinu v zru, a to se pak mohlo použít ve sladovnictví.

Ječmen dvouřadý měl po všechny tři roky sledování menší akumulaci mykotoxinu DON v zru než ječmen šestiřadý. Byla tedy potvrzena teorie, že pokud budou vhodné podmínky k napadení, bude ječmen dvouřadý více odolný k napadení než ječmen šestiřadý. Ječmen šestiřadý byl také více ovlivněn ročníkem než ječmen dvouřadý. V roce 2020, kdy byl velmi příznivý rok pro napadení tzn. pravidelné lehké deště a bez výskytu tropických dnů, měl průměrnou akumulaci mykotoxinu DON v zru až 120 mg/kg. Může za to stavba klasu, kdy se v těsném klasu bude více držet vlhkost a patogen se tak bude lépe po klasu šířit. V Evropě je více rozšířené pěstování dvouřadého ječmene jarního a ječmen šestiřadý má spíš využití jako krmivo. V Americe se však můžeme setkat s pivovary, kde prosazují sladování ječmene šestiřadého. Trend sladování ječmene šestiřadého ještě nepronikl do Evropy, avšak pokud by se tak stalo znamenalo by to věnovat porostu vyšší pozornost a dělat pravidelné kontroly pole za vhodných podmínek pro šíření fuzarióz klasu.

Ječmen nahý měl nižší průměrné koncentrace mykotoxinu než ječmen pluchatý po všechny tři roky, dokonce v roce 2019 měl průměrnou koncentraci DON pod 10 mg/kg. Může za to hlavně fakt, že velká část zástupců této skupiny patří mezi rezistentní odrůdy. Ječmen pluchatý měl vyšší průměrné koncentrace mykotoxinu DON než ječmen nahý, avšak stále nebyly jeho průměrné koncentrace tak vysoké, jak by se u polních pokusů dalo očekávat. Při polních pokusech se běžně měří daleko vyšší koncentrace mykotoxinu v zru, a navíc velká část zástupců této skupiny patří mezi odrůdy náchylné k fuzariózám klasu. Potvrdil se také ochranný efekt pluch, které chrání zru tím, že se mykotoxin akumuluje v pluchách a nedostává se až do zrna. Obě tyto skupiny nabízí zástupce odolné k fuzariózám klasu, a nakonec rozhoduje hlavně jejich využití. Ječmen pluchatý je typický pro své sladovnické využití, avšak i ječmen nahý může v budoucnu hrát roli v tomto oboru. Dnes má ječmen nahý velké využití v tzv. zdravých potravinách pro jeho vysoké obsahy minerálů, vitamínů a dalších prospěšných látek.

Byl pozorován vliv počasí v jednotlivých letech na výskyt fuzarióz klasu. Vlhké dny zlepšují napadání a šíření patogenu po porostu, kdy jsou při polních kontrolách vidět vybělené klasy s losovým zbarvením. To se potvrdilo i při hodnocení výsledků po laboratorním

detekování mykotoxinu DON, kdy rok s pravidelnými srážkami představoval rok s nejvyššími koncentracemi mykotoxinu. Je tedy důležité uvědomovat si vliv počasí na napadení a také nezapomínat na preventivní opatření jako je orba, dodržování osevního postupu, používání certifikovaného osiva, využití preventivní fungicidní ochrany v době, kdy jsou rostliny nejcitlivější a pěstování rezistentních odrůd. Je vhodné pěstovat rezistentní odrůdy v oblastech s častým pěstováním obilnin, kdy by se fuzariózy mohly šířit ze sousedních polí. Bylo by zajímavé práci rozvinout o rok 2022, kdy byly podmínky počasí nepříznivé k šíření houbových chorob, a tak byl jejich výskyt utlumen. Bohužel tento rok se snížilo množství odrůd hodnocených v polních pokusech, a proto jsem se zaměřila pouze na odrůdy, které jsem sledovala už od roku 2019 a mohla porovnat všechna data a jejich vývoj za několik let.

8 Literatura

Adebajo LO, Diyaolu SA. 2003. Mycology and spoilage of retail cashew nuts. *African Journal Biotechnology* **2**:369-373.

Akar T, Acvi M, Dusunceli F, Majía D. 2004. Barley: Post – harvest operations [cit. 2022-10-15]. Dostupné z: <https://www.fao.org/publications/card/en/c/b41e988d-4219-4de8-82b1-627d205c89b9/>.

Alberta Agriculture and Forestry. 2020. Fusarium head blight of barley and wheat. Government of Alberta, Alberta.

ÚKZÚZ. 2023. Růžovění klasů pšenice. Rostlinolékařský portál [online]. [cit. 2023-3-1]. Dostupné z https://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%22473efbfdc07ae4c34315a9d22740c999%22#r|p|so|choroby|detail:473efbfdc07ae4c34315a9d22740c999|popis

Avantaggiato G, Quaranta F, Aureli G, Melloni S, D'Egidio M G and Visconti A. 2008. 'ELISA and HPLC analyses of deoxynivalenol in durum wheat varieties grown in organic farming in Italy'. A paper presented at the International Durum Wheat Symposium 2008, Bologna, Italy.

Benada J. 2001. Metodika pěstování jarních obilnin. Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž s. r. o, Kroměříž.

Bernhoft A, Torp M, Clasen PE, Løes AK, Kristoffersen AB. 2012. Influence of agronomic and climatic factors on Fusarium infestation and mycotoxin contamination of cereals in Norway, *Food Additives & Contaminants* **29**:1129-1140.

Berthiller F, Crews C, Dall'Asta C, Saeger SD, Haesaert G, Karlovsky P, Oswald IP, Seefelder W, Speijers G, Stroka J. 2013. Masked mycotoxins: a review. *Molecular Nutrition and Food Research* **57**:165-86.

Bottalico A, Perrone G. 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *European Journal of Plant Pathology* **108**: 611-624.

Brown Jr WM, Hill Joseph P, Velasco VR. 2001. Barley yellow rust in North America. *Annual Review of Phytopathology* **39**: 367-384.

Bushnell WR, Hazen BE, Pritsch C. 2003. Histology and physiology of Fusarium head blight. Pages 44-83 in: Leonard KJ, et al. editors. *Fusarium Head Blight of Wheat and Barley*. USA: APS Press.

Czembor JH, Czembor E, Suchecki R, Watson-Haigh NS. 2022. Genome-Wide Association Study for Powdery Mildew and Rusts Adult Plant Resistance in European Spring Barley from Polish Gene Bank. *Agronomy* **12**: 7.

Desjardins AE. 2006. *Fusarium Mycotoxins: Chemistry, Genetics and Biology*. American Plant Pathological society. APS Press.

Di Mavungu JD, De Saeger S. 2011. Masked mycotoxins in food and feed: challenges and analytical approaches. Pges 385-400 in: De Saeger S., editor. *Determining Mycotoxins and Mycotoxigenic Fungi in Food and Feed*. Cambridge: Woodhead Publishing Ltd.

Dill-Macky R, Jones RK. 2000. The effect of previous crop residues and tillage on *Fusarium* head blight of wheat. *Plant Disease* **84**: 71-76.

EFSA. 2004. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to deoxynivalenol (DON) as undesirable substance in animal feed. *EFSA Journal* **73**: 41.

Eurostat. 2022. Agricultural production – crop. [cit. 2022-11-20]. Dostupné z: https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Agricultural_production_-_crops&oldid=577263#cite_note-1.

FAO. 2013. *FAO Statistical Yearbook 2013: World Food and Agriculture*. FAO, Italy.

Gajecki M, Jakimiuk E, Gajecka M, Motyka J, Obremski K. 2010. Praktyczne metody zmniejszenia aktywności mikotoksyn w paszach. *Magazyn Weterynaryjny Monografia* 605-610.

Gallo G, Lo BM, Bognanni R, Saimbene G. 2008. Mycotoxins in durum wheat grain: hygienic-health quality of sicilian production. *Journal of Food Science* **73**:42–47.

Goswami SR, Kistler CH. 2004. Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal crops. *Molecular Plant Pathology* **5**: 515-525.

Gruber-Dorninger C, Novak B, Nagl V, Berthiller F. 2017. Emerging mycotoxins: Beyond traditionally determined food contaminants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **65**: 7052-7070.

Habuřtová O, Sehnal F, Svobodová Z, Hussein HM. 2011. Optimalizace metodiky ELISA pro stanovení obsahu Cry3Bb1 toxinu v různých částech kukuřice pomocí komerčního kitu. *Biologické Centrum AV ČR, České Budějovice*.

Hájek M, Černý L, Vašák J. 2006. Pohled do historie pěstování sladovnického ječmene. Pages 4-5. *Úspěšné plodiny pro velký trh“ - Ječmen a cukrovka*. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.

Hussein HS, Brasel JM. 2001. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology* **167**: 101–134.

Champeil A, Doré T, Fourbet JF. 2004. Fusarium head blight: epidemiological origin of effects of cultural practices on headblight attacks and the production of mycotoxins by Fusarium in wheat grains. *Plant Science* **166**: 1389-1415.

Chrpová J, Šíp V, Sýkorová S, Sychrová E. 2007. Možnosti snížení rizika napadení obilnin klasovými fuzariózami – metodika pro praxi. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i., Praha.

IARC. 2016. Agents classified by the IARC Monographs, [cit. 2022-11-1]. Dostupné z: <https://monographs.iarc.who.int/agents-classified-by-the-iarc/>.

Ireta MJ, Gilchrist L. 1994. Fusarium head scab of wheat (*Fusarium graminearum* Schwabe). CIMMYT.

Janssen EM, Mourits, MCM, Fels-Klerx HJ, Oude Lansink AGJM. 2019. Pre-harvest measures against *Fusarium* spp. Infection and related mycotoxins implemented by Dutch wheat farmers. *Crop Protection* **122**: 9–18.

Khonga EB, Sutton JC. 1988. Inoculum production and survival of *Gibberella zeae* in maize and wheat residues. *Canadian Journal of Plant Pathology* **10**: 232-239.

Komise evropských společenství. 2006. Nařízení Komise (ES) č. 1881/2006 ze dne 19. prosince 2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách (Text s významem pro EHP). Úřední věstník Evropské unie.

Kraska P, Mielniczuk E. 2012. The occurrence of fungi on the stem base and roots of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) grown in monoculture depending on tillage systems and catch crops. *Acta Agrobotanica* **65**:1–79.

Krausko A, Broba O, Macek H. 1980. Jarný jačmeň. Příroda Bratislava, Bratislava.

Křen J, Smutná P, Matušinský P. 2018. Pravidla použití mořeného a nemořeného osiva při pěstování obilnin. Mendelova univerzita v Brně, Brno.

Lanubile A, Maschietto V, Borrelli VM, Stagnati L, Logrieco AF, Marocco A. 2017. Molecular basis of resistance to fusarium ear rot in maize. *Frontiers in Plant Science* **8**:1774.

Lehoczki-Krsjak S, Szabó-Hevér A, Tóth B, Bartók T, Varga M, Farády L, Mesterházy A. 2010. Prevention of Fusarium mycotoxin contamination by breeding and fungicide application to wheat. *Food Additives & Contaminants Part A: Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment* **27**: 616–28.

Lišková Z. 2021. Charakteristika odrůd a linií ječmene jarního z hlediska rezistence k Fuzarióze klasu. [BSc. Thesis]. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.

- Logozzi M, Di Raimo R, Mizzoni D, Fais S. 2020. Immunocapture-based ELISA to characterize and quantify exosomes in both cell culture supernatants and body fluids. *Methods in enzymology* **645**:155–180.
- Marroquín-Cardona AG, Johnson NM, Phillips TD, Hayes AW. 2014. Mycotoxins in a changing global environment—a review. *Food and Chemical Toxicology* **69**: 220-230.
- Mesterházy Á. 1995. Types and Components of Resistance to Fusarium Head Blight of Wheat. *Plant Breeding* **114**: 377–386.
- Mesterházy Á. 2002. Theory and Practice of the Breeding for Fusarium Head Blight Resistance in Wheat. *Journal of Applied Genetics*. **43A**: 289–302.
- Mesterházy A, Bartók T, Kászonyi G, Varga M, Tóth B, Varga J. 2005. Common resistance to different Fusarium spp. causing Fusarium head blight in wheat. *European Journal of Plant Pathology* **112**: 267–81.
- Miller JD, Arnison, PG. 1986. Degradation of Deoxynivalenol by Suspension Cultures of the Fusarium Head Blight Resistant Wheat Cultivar Frontana. *Canadian Journal of Plant Pathology* **8**:147–150.
- Mostrom M. 2016. Mycotoxins: Classification. Pages 29-34 in Caballero B, Finglas PM, Toldrá F, editors. *Encyclopedia of Food and Health*, USA: Academic Press.
- Nedělník J. 2014. Mykotoxiny v objemných krmivech. Pages 15-19 in Profood, editor. *Mykotoxíny 2014*. Praha.
- Newton A, Flavell A, George T, Leat P, Mullholland B, Ramsay L, Revoredo-Giha C, Russell J, Steffenson B, Swanston J, Thomas W, Waugh R, White P, Bingham I. 2011. Crops that feed the world 4. Barley: A resilient crop? Strengths and weaknesses in the context of food security. *Food Security* **3**: 141-178.
- Nolan P, Auer S, Spehar A, Elliott CT, Campbell, K. 2019. Current trends in rapid tests for mycotoxins. *Food Additives & Contaminants: Part A* **36**: 800-814.
- OECD. 2004. Consensus document on compositional considerations for new varieties of barley (*Hordeum vulgare* L.): Key food and feed nutrients and anti-nutrients. Environment Directorate, Paris.
- Osborne LE, Stein JM. 2007. Epidemiology of Fusarium head blight on small-grain cereals. *International Journal of Food Microbiology* **119**: 103-108.
- Parry DW, Jenkinson P, McLeod L. 1995. Fusarium ear blight (scab) in small grains — a review. *Plant Pathology* **44**: 207–238.

- Pereyra SA, Dill-Macky R, Sims AL. 2004. Survival and inoculum production of *Gibberella zeae* in wheat residue. *Plant Disease* **88**: 724-730.
- Pestka JJ, Yike I, Dearborn DG, Ward MD, Harkema, JR. 2008. *Stachybotrys chartarum*, trichothecene mycotoxins, and damp building–related illness: new insights into a public health enigma. *Toxicological sciences* **104**: 4-26.
- Pestka JJ. 2010. Deoxynivalenol: Mechanisms of action, human exposure, and toxicological relevance. *Arch. Toxicology* **84**: 663–679.
- Petr J, Húska J. 1997. Speciální produkce rostlinná I. (obecná část a obilniny). ČZU Praha, Praha
- Piacentini KC, Běláková S, Benešová K, Pernica M, Savi GD, Rocha LO, Corrêa B, Hartman I, Čáslavský J. 2019. Fusarium mycotoxins stability during the malting and brewing processes. *Toxins* **11**:257.
- Pitt JJ. 2014. Mycotoxins: Zearalenone. *Encyclopedie of Food Safety* **2**:313-314.
- Poppenberger B, Berthiller F, Lucyshyn D, Sieberer T, Schuhmacher R, Krska R, Kuchler K, Glossl J, Luschnig C and Adam G. 2003. Detoxification of the Fusarium mycotoxin deoxynivalenol by a UDP-glucosyltransferase from *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Biological Chemistry* **278**:47905–47914.
- Reverberi, M., Ricelli, A., Zjalic, S., Fabbri, A. A., & Fanelli, C. 2010. Natural functions of mycotoxins and control of their biosynthesis in fungi. *Applied microbiology and biotechnology* **87(3)**:899–911.
- Righetti L, Galaverna G, Dall'Asta C. 2017. Group detection of DON and its modified forms by an ELISA kit. *Food Additives & Contaminants: Part A* **34**: 248-254.
- Shaveta S, Kaur H, Kaur S. 2019. Hulless Barely: A new era of research for food purposes. *Journal of Cereal Research* **11**:2.
- Shiferaw B, Smale M, Braun H. J, Duveiller E, Reynolds M, Muricho G. 2013. Crops that feed the world. Past successes and future challenges to the role played by wheat in global food security. *Food Security* **5**: 291–317.
- Schmale DG, Bergstrom CG. 2003. Fusarium head blight in wheat. *The Plant Health Instructor*: n. pag.
- Schroeder HW, Christensen, JJ. 1963. Factors Affecting Resistance of Wheat to Scab by *Gibberella zeae*. *Phytopathology* **53**:831–838.
- Simpson DR, Weston GE, Turner JA, Jennings P, Nicholson P. 2001. Differential control of head blight pathogens of wheat by fungicides and consequences for mycotoxin contamination of grain. *European Journal of Plant Pathology* **107**: 421–431.

Spanic V, Marcek T, Abicic I, Sarkanj B. 2018. Effects of Fusarium Head Blight on Wheat Grain and Malt Infected by *Fusarium culmorum*. *Toxins* **10**: 17.

Sugita-Konishi Y, Park BJ, Kobayashi-Hattori K, Tanaka T, Chonan T, Yoshikawa K, Kumagai S. 2006. Effect of cooking process on the deoxynivalenol content and its subsequent cytotoxicity in wheat products. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **70**: 1764–1768.

Širučková I, Kroutil P. 2007. Fuzariózy na obilninách (*Fusarium* spp.). Praha: Ministerstvo zemědělství ve spolupráci se Státní rostlinolékařskou správou, [cit. 2022-10-16]. Dostupné z: http://www.bezpecna-krmiva.cz/soubory/4-Fuzariozy_na_obilninach.pdf

Šobrová P, Adam V, Vašátková A, Beklová M, Zeman L, Kizek R. 2010. Deoxynivalenol and its toxicity. *Interdisciplinary Toxicology* **3**: 94-9.

Štěrbá Z, Moudrý J. 2007. Jarní ječmen (*Hordeum vulgare* L.) v ekologickém zemědělství. Strany Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, České Budějovice.

Tekauz A, McCallum B, Gilbert J. 2009. Fusarium head blight of barley in western Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology* **22**: 9-16.

Trail F, Gaffoor I, Vogel S. 2005. Ejection mechanics and trajectory of the ascospores of *Gibberella zeae* (anamorph *Fusarium graminearum*). *Fungal Genetics and Biology* **42**: 528-533.

Turner NW, Bramhmbhatt H, Szabo-Vezse M, Poma A, Coker R, Piletsky SA. 2015. Analytical methods for determination of mycotoxins: An update (2009-2014). *Analytica Chimica Acta* **901**:13-33.

Tvarůžek L, Matušinsky P, Vyšohlídková M. 2012. Metodika pro zakládání a hodnocení pokusů s umělou inokulací obilnin fuzariózami klasů. Agrotest fyto, s.r.o., Kroměříž.

Valcheva A, Valchev G. 2007. The fusariotoxins zearalenon and deoxinivalenol as natural contaminants of some basic cereal components in the production of combined feed. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* **13**:99-104.

Váňová M, Palík S, Hajšlová J, Burešová I. 2006. Grain quality and yield of spring barley in field trials under variable growing conditions. *Plant, Soil and Environment* **5**: 211-219.

Visconti A, Haidukowski EM, Pascale M, Silvestri M. 2004. Reduction of deoxynivalenol during durum wheat processing and spaghetti cooking. *Toxicology Letters* **153**:181–189.

Wegulo SN, Baenziger PS, Nopsa JH, Bockus WW, Hallen-Adams H. 2015. Management of Fusarium head blight of wheat and barely. *Crop Protection* **73**: 100-107.

Yi, C, Kaul HP, Kübler E, Schwadorf K, Aufhammer I. 2001. Head blight (*Fusarium graminearum*) and deoxynivalenol concentration in winter wheat as affected by pre-crop soil tillage and nitrogen fertilisation. *Journal of Plant Diseases and Protection* **108**: 217–230.

Yli-Mattila T. 2010. Ecology and evolution of toxigenic *Fusarium* species in cereals in Northern Europe and Asia. *Journal of Plant Pathology* **92**: 7–18.

Yu J, Bai G, Cai S, Dong Y, Ban T. 2008. New *Fusarium* head blight-resistant sources from asian wheat germplasm. *Crop Science* **48**: 1090–1097.

Zimolka J. 2006. Současné a perspektivní uplatnění ječmene. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský a. s, Praha.

Zinedine A, Soriano JM, Molto JC, Manes J. 2007. Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: an oestrogenic mycotoxin. *Food and chemical toxicology* **45**: 1-18.

9 Seznam obrázků a grafů

Seznam obrázků:

Obrázek č. 1: Lososové mycelium na klasech napadených houbami rodu *Fusarium*. Foto autorka.

Obrázek č.2: Vývojový cyklus fuzariózy klasu. Mills et al. 2016.

Obrázek č. 3: Faktory ovlivňující napadení zrna houbami rodu *Fusarium*. Hajšlová 2008.

Obrázek č. 4: Výsev do hnízd. Foto autorka

Obrázek č. 5: 10 vybraných klasů připravených k inokulaci. Foto autorka

Obrázek č. 6: Zakryté klasy po inokulaci. Foto autorka

Obrázek č. 7: napadení dvouřadého ječmene jarního houbami rodu *Fusarium*. Foto autorka.

Obrázek č. 8: Napadení šestiřadého ječmene jarního houbami rodu *Fusarium*. Foto autorka.

Seznam tabulek:

Tabulka 1: Maximální povolené limity mykotoxinů, Komise evropských společenství 2006.

Tabulka 2: Přehled odrůd a materiálů ječmene jarního

Tabulka 3: Jednorozměrné testy významnosti pro koncentraci mykotoxinu DON u hodnocených materiálů

Tabulka 4: Jednorozměrné testy významnosti pro koncentraci mykotoxinu DON u ječmenů dvouřadých a šestiřadých

Tabulka 5: Jednorozměrné testy významnosti pro koncentraci mykotoxinu DON u ječmenů nahých a pluchatých

Seznam grafů:

Graf č. 1: Průběh počasí červen 2019, 2020 a 2021

Graf č. 2: Průběh počasí červenec 2019, 2020 a 2021

Graf č. 3: Průměrný obsah mykotoxinu DON zkoušených materiálů ječmene jarního po infekci *Fusarium* sp.

Graf č. 4: Statistické hodnocení vlivu ročníku na obsah mykotoxinu DON u hodnocených materiálů

Graf č. 5: Průměrný obsah mykotoxinu DON u ječmene dvouřadého a šestiřadého po infekci *Fusarium* sp.

Graf č. 6: Statistické hodnocení vlivu ročníku na obsah mykotoxinu DON u ječmenů dvouřadých a šestiřadých

Graf č. 7: Průměrný obsah mykotoxinu DON u nahého a pluchatého ječmene jarního po infekci *Fusarium* sp.

Graf č. 8: Statistické hodnocení vlivu ročníku na obsah mykotoxinu DON u ječmenů pluchatých a nahých

10 Samostatné přílohy

Tabulka 1: Přehled odrůd a materiálů ječmene jarního

Odrůda	Počet řad ¹	Typ zrna	Materiál
1/11	2	p	C
1/19	2	p	C
1/29	2	p	C
1/41	2	p	C
1/46	2	p	C
17/601/1	2	p	A
17/601/10	2	p	A
17/601/12	2	p	A
17/601/13	2	p	A
17/601/14	2	p	A
17/601/15	2	p	A
17/601/16	2	p	A
17/601/17	2	p	A
17/601/18	2	p	A
17/601/19	2	p	A
17/601/2	2	p	A
17/601/20	2	p	A
17/601/21	2	p	A
17/601/22	2	p	A
17/601/23	2	p	A
17/601/24	2	p	A
17/601/27	2	p	A
17/601/28	2	p	A
17/601/29	2	p	A
17/601/3	2	p	A
17/601/30	2	p	A
17/601/31	2	p	A
17/601/33	2	p	A
17/601/34	2	p	A
17/601/35	2	p	A
17/601/36	2	p	A
17/601/37	2	p	A
17/601/38	2	p	A
17/601/39	2	p	A

¹ Počet řad – 2 = dvouřadý, 6 = šestiřadý ječmen jarní

Typ zrna – p = pluchaté, n = nahé

Materiál – A = současná novošlechtění, B = materiál z genové banky, C = nesladovnický ječmen

Odrůda	Počet řad¹	Typ zrna	Materiál
17/601/4	2	p	A
17/601/40	2	p	A
17/601/43	2	p	A
17/601/44	2	p	A
17/601/45	2	p	A
17/601/46	2	p	A
17/601/47	2	p	A
17/601/5	2	p	A
17/601/50	2	p	A
17/601/52	2	p	A
17/601/53	2	p	A
17/601/54	2	p	A
17/601/55	2	p	A
17/601/56	2	p	A
17/601/57	2	p	A
17/601/6	2	p	A
17/601/7	2	p	A
17/601/8	2	p	A
17/601/9	2	p	A
17/605/1	2	p	A
17/605/12	2	p	A
17/605/13	2	p	A
17/605/14	2	p	A
17/605/18	2	p	A
17/605/19	2	p	A
17/605/21	2	p	A
17/605/23	2	p	A
17/605/25	2	p	A
17/605/26	2	p	A
17/605/28	2	p	A
17/605/29	2	p	A
17/605/31	2	p	A
17/605/32	2	p	A
17/605/35	2	p	A
17/605/36	2	p	A
17/605/38	2	p	A
17/605/39	2	p	A
17/605/40	2	p	A
17/605/42	2	p	A
17/605/43	2	p	A
17/605/44	2	p	A

Odrůda	Počet řad¹	Typ zrna	Materiál
17/605/45	2	p	A
17/605/47	2	p	A
17/605/48	2	p	A
17/605/49	2	p	A
17/605/5	2	p	A
17/605/55	2	p	A
17/605/58	2	p	A
17/605/59	2	p	A
17/605/6	2	p	A
17/605/60	2	p	A
17/605/61	2	p	A
17/605/62	2	p	A
17/605/64	2	p	A
17/605/67	2	p	A
17/605/70	2	p	A
17/605/76	2	p	A
17/605/77	2	p	A
17/605/78	2	p	A
17/605/8	2	p	A
17/605/85	2	p	A
17/605/9	2	p	A
17/605/90	2	p	A
17/605/92	2	p	A
17/605/93	2	p	A
17/605/94	2	p	A
17/605/96	2	p	A
17/605/97	2	p	A
17/605/99	2	p	A
2/35	2	p	C
2/43	2	p	C
Adam	2	p	A
Adonia linie 1	6	p	B
Adonia linie 2	6	p	B
AF Cesar	2	n	C
AF Lucius	2	n	C
Akta Abed	2	p	B
Amalia	2	p	B
Arra	6	p	B
Asplund	6	p	B
Athos	2	p	B
Atribut	2	p	B

Odrůda	Počet řad ¹	Typ zrna	Materiál
Bai Liu Leng	6	n	B
Balder Ohra	2	p	B
Ballerina	2	p	B
Bavaria Ackermanns	2	p	B
Bethges III	2	p	B
Bigo	6	p	B
Binder Abed	2	p	B
Blondie linie 1	2	p	B
Blondie linie 2	2	p	B
Bode	6	p	B
Branišovický C	2	p	B
Brenda	2	p	B
Carlsberg	2	p	B
Cask	2	p	B
CDC Fibar	2	n	C
CDC Rattan	2	n	C
Clearwater	2	n	C
Clermont	6	p	B
Commander	6	p	B
Cork	2	p	B
Denso	2	p	B
Deuce	2	p	B
Dinky linie 1	2	p	B
Dinky linie 2	2	p	B
Druzba	2	p	B
Duckbill	2	p	B
Ebstorfer Nacktgerste	6	n	B
Ekonom	2	p	B
Entresole	6	p	B
Esperance No. 227/1960	2	p	B
Fandaga	2	p	A
Glattgrannige von Vilmorin	6	p	B
Golden Promise	2	p	B
Goldmarker	2	p	B
Grammos	2	p	B
Granat Breustedts	6	p	B
Hadostreng	6	p	B
Haisa i Heines	2	p	B
Hanacky Kargyn	2	p	B
Harbine	6	p	B
Harriman	2	p	C

Odrůda	Počet řad ¹	Typ zrna	Materiál
Heris	2	p	B
Hermine	2	p	B
Hero linie 1	6	p	B
Hero linie 2	6	p	B
Hockey	2	p	B
Chariot	2	p	B
Charkovskii 91	2	p	B
Chlumecky	2	p	B
Isaria Nova	2	p	B
Ishtar	6	p	B
Izmir 9 linie 1	6	p	B
Izmir 9 linie 2	6	p	B
Jelen	2	p	B
Jersey	2	p	B
Kilta	6	p	B
KM 2454-496	2	n	C
KM 2460-2	2	p	C
KM 2551-296	2	n	C
KM 2551-389	2	n	C
KM 2881-164	2	n	C
KM 2975	2	n	C
KM1057-1906.224.5.05	2	n	C
KM1057-1906.225.1.05	2	n	C
KM1057-1906-262-06	2	n	C
KM1057-1924	2	n	C
KM2283	2	n	C
KM2454.439.99...1.46.10-M	2	n	C
KM2454.439.99...1.46.10-S	2	n	C
KM2454.439.99.262.11	2	n	C
KM2551.469.1.02.296.11	2	n	C
KM2624	2	p	C
KM2693	2	n	C
KM2696.614/15.07	2	n	C
KM2881	2	n	C
KM2881.349.15	2	n	C
KM2881.350.15	2	n	C
KM2910.517.08	2	p	C
KM2942...94.11.14...371.15	2	n	C
KM2986	2	n	C
KM2986.353.15	2	n	C
KM3189.121.10.12	2	n	C

Odrůda	Počet řad ¹	Typ zrna	Materiál
KM3191.12.2.15	2	n	C
KM3222.116.15	2	n	C
KM3227.175.14.10.138.47.12	2	n	C
KM3238.59.27.12...332.15	2	n	C
KM3255.105.1.15	2	n	C
KM3322.585.21.13	2	n	C
KM3322.585.90.13	2	n	C
KM3339.600.1.13	2	n	C
KM3339.600.30.13	2	n	C
KM3340.58.2.15	2	p	C
KM3340.586.2.13	2	n	C
KM3340.65.2.15	2	n	C
KM3341.67.2.15	2	p	C
KM3342.588.61.13 (28)	2	p	C
KM3342.588.61.13 (24)	2	p	C
Krystal	6	p	B
Lapac	6	p	B
Lion	6	p	B
Logan	2	p	B
LP1	2	p	C
LP1-WT	2	p	C
LP2	2	p	C
LP2-WT	2	p	C
LP3	2	p	C
LP3-WT	2	p	C
LP4	2	p	C
LP4-WT	2	p	C
Lyallpur 3647	2	n	B
Malebo	6	p	B
Manchuria	6	p	B
Merkur	6	p	B
Murasski Mochi	6	n	B
Nagrad	2	p	B
Namoi	2	n	B
Nolc-Dregeruv Imperial A	2	p	B
Nomad	2	p	B
Novodvorsky Hanacky	2	p	B
Novum	2	p	B
Nudimelanocrithon	2	n	C
Nugget	2	p	B
Oderlongauner	2	p	B

Odrůda	Počet řad ¹	Typ zrna	Materiál
Kneifelgerste 1.1			
Oderlongauner Kneifelgerste 1.2	2	p	B
Odesskij 131	2	p	B
Odissej	2	p	B
Olont	2	p	B
Opavsky Kneifl	2	p	B
Otterbacher	2	p	B
Patty	2	p	B
Peatlant	6	p	B
Pirogovskij	2	p	B
Plena linie 1	2	p	B
Plena linie 2	2	p	B
Plumage Archer	2	p	B
Princesse	2	p	B
Prosa	2	p	B
Pumper 6 ZLG	6	p	B
Ragusa 415	6	p	B
Ratborsky	2	p	B
Roxane	2	p	B
Rubin	2	p	B
Saxonia Malz Imperial	2	p	B
Selekčni Hanacky VIII.	2	p	B
Senor	2	p	B
Sinaji Mugi	6	p	B
Sladar linie 1	2	p	B
Sladar linie 2	2	p	B
Stephan	2	p	B
Stupický Hanacky	2	p	B
Stupický Plnozrnny	2	p	B
Sudan	6	p	B
Sulu	6	p	B
Tadmor	2	p	B
Tamina	2	p	B
Thaya Loosdorfers	2	p	B
Torcal	2	p	B
Trebi	6	p	B
Umanskij	2	p	B
Union Firlbecks	2	p	B
Valtický	2	p	B
Viva	2	p	B

Odrůda	Počet řad¹	Typ zrna	Materiál
Vybor	6	p	B
Weihenstephaner Mehltauresistente	2	p	B
Wisa Breuns	2	p	B
Wong	2	p	B
Woodrow	6	p	B
Ymer	2	p	B