

## Mykotoxikologická kvalita ječmene sklizeného v ČR v letech 2005–2010

### *Mycotoxicological Quality of Barley Harvested in the Czech Republic in 2005–2010*

IVANA POLIŠENSKÁ, ONDŘEJ JIRSA, PAVEL MATUŠINSKÝ

Agrotest fyto, s.r.o., Havlíčkova 2787, 767 01 Kroměříž / Agrotest fyto, s.r.o., Havlíčkova 2787, 767 01 Kromeriz  
e-mail: polisenska@vukrom.cz**Polišenská, I. – Jirsa, O. – Matušinský, P.: Mykotoxikologická kvalita ječmene sklizeného v ČR v letech 2005–2010.** Kvasny Prum. 58, 2012, č. 4, s. 109–114.

U reprezentativního souboru vzorků ječmene sklizeného v České republice v letech 2005–2010 byl hodnocen výskyt fuzáriových mykotoxinů deoxynivalenolu (DON) a zearalenonu (ZEA), vliv agrotechnických faktorů na úroveň kontaminace těmito mykotoxiny a přítomnost čtyř druhů patogenů *Fusarium* (*F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum* a *F. poae*). Byla zjištěna statisticky průkazná ročníková závislost obsahu DON i ZEA a průkazný vliv předplodiny i odrůdy na obsah DON. Nejvyšší úroveň obsahu DON byla zjištěna ve sklizni roku 2009 a odpovídaly tomu také výjimečně časté nálezy patogena *F. graminearum* v tomto roce. V ostatních letech na ječmeni dominovalo *F. poae*.

**Polišenská, I. – Jirsa, O. – Matušinský, P.: Mycotoxicological quality of barley harvested in the Czech Republic in 2005–2010.** Kvasny Prum. 58, 2012, No. 4, p. 109–114.

A representative set of barley samples collected in the Czech Republic in 2005–2010 was used to evaluate the occurrence of *Fusarium* mycotoxins deoxynivalenol (DON) and zearalenone (ZEA), the effect of agronomic factors on the level of mycotoxin contamination and the presence of four *Fusarium* species (*F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum* and *F. poae*). A significant correlation between the year and DON as well as ZEA content in barley, and significant effects of the preceding crop and variety on DON content were confirmed. The highest level of DON content was found in grain harvested in 2009, which was in correspondence with extremely frequent detection of the producer of this mycotoxin, *F. graminearum*, in this year. In the other years, *F. poae* predominated on barley.

**Polišenská, I. – Jirsa, O. – Matušinský, P.: Die mykologische Qualität der Gerste geerntet im Zeitraum 2005–2010.** Kvasny Prum. 58, 2012, Nr. 4, S. 109–114.

Bei der repräsentativen Probe der im Zeitraum 2005–2010 in der Tschechischen Republik geernteten Gerste wurde ein Auftreten von Fusarien Mykotoxinen Deoxynivalenol (DON) und Zearalenon (ZEA) ausgewertet, weiter ist ein Einfluss der agrotechnischen Faktoren auf Grad der durch diese Mykotoxine verursachte Kontamination und die Anwesenheit von vier Patogensorten *Fusarium* (*F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum* und *F. poae*) verfolgt worden. Die statistisch schlüssige Jahrgangsabhängigkeit des Gehalts an DON, ZEA, einen schlüssigen Einfluss der Vorfrucht, und der Sorte auf den Gehalt an DON wurde festgestellt. Im Jahre 2009 wurde einen höchsten Gehalt an DON in der Ernte ermittelt, was dem außerordentlich häufigen Befund des Pathogens *F. graminearum* im diesen Jahre entspricht. In den anderen Jahren dominierte an der Gerste *F. poae*.

**Klíčová slova:** ječmen, *Fusarium*, mykotoxiny, deoxynivalenol, zearalenon**Keywords:** barley, *Fusarium*, mycotoxins, deoxynivalenol, zearalenone

## 1 ÚVOD

Ječmen, stejně jako ostatní drobnozrné obiloviny, může být v průběhu vegetace napadán patogeny *Fusarium* a následně kontaminován jejich toxickými metabolity, mykotoxiny. Na rozdíl od pšenice (*Triticum aestivum*) jsou ječmen, žito i oves považovány obecně za méně náchylné (Langevin, F., et al., 2004). Údaje o výskytu mykotoxinů u jednotlivých druhů obilovin se však v závislosti na geografické poloze liší. Studie z Kanady, založená na sledování výskytu mykotoxinů v běžné kanadské produkci obilovin v letech 1991 až 1998, uvádí nejvyšší průměrnou koncentraci deoxynivalenolu (DON) v pšenici, nižší v ječmeni a nejnižší v ovsu (Campbell, H., et al., 2002). Data z Minnesoty (USA) z let 1993 a 1994, kdy zde byly mimořádně příznivé podmínky pro rozvoj fuzárií, udávají průměrné koncentrace DON nejvyšší u ječmene, nižší u pšenice a nejnižší u ovsa (Jones a Mirocha, 1999). V Norsku šestiletá studie prokázala nejvyšší obsah DON v ovsu, pak v pšenici a nejnižší v ječmeni (Langseth a Elen, 1997). Jednou z příčin variability ve výskytu mykotoxinů je variabilita v zastoupení jednotlivých druhů *Fusarium*. Na ohoření klasů obilovin se totiž podílí obvykle více patogenů *Fusarium* současně (Xu et al., 2005), přičemž jejich nároky na podmínky prostředí se mohou lišit (Rossi et al. 2001; Brennan et al., 2005). Nejčastějšími druhy *Fusarium* vyskytujícími se v Evropě jsou nyní *F. graminearum* a *F. culmorum* (Mesterházy, 2003). Oba tyto druhy produkují zejména DON, zearalenon (ZEA) a nivalenol (Logrieco et al. 2003). *F. culmorum* může produkovat také moniliformin (Desjardins, 2006). Velmi často jsou v Evropě na obilovinách nacházeny také druhy *F. poae* a *F. avenaceum* (Vogelgsang, 2005). *F. poae* produkuje celou řadu trichotheceenových mykotoxinů a uvádí se, že je

## 1 INTRODUCTION

Barley, as well as the other small grains, can be infected by *Fusarium* pathogens during the growing season and then contaminated with their toxic metabolites, mycotoxins. In contrast to wheat (*Triticum aestivum*), barley, rye and oats are generally considered less susceptible (Langevin et al., 2004). However, data about the occurrence of mycotoxins in individual cereal species differ depending on the geographical location. A study from Canada, based on observing the presence of mycotoxins in Canadian grain production in 1991–1998, gives the highest average concentration of deoxynivalenol (DON) in wheat, lower in barley and lowest in oats (Campbell et al., 2002). Data from Minnesota (USA) from 1993 and 1994, when there were especially favourable conditions for developing fusaria, give the highest average concentrations of DON in barley, lower in wheat and lowest in oats (Jones a Mirocha, 1999). In Norway, a six years study demonstrated the highest DON content in oats, followed by wheat and the lowest content in barley (Langseth a Elen, 1997). One of sources of variability in the occurrence of mycotoxins is a variability in proportions of individual *Fusarium* species. Diseasing of cereal heads is usually caused by more *Fusarium* pathogens simultaneously (Xu et al., 2005), while their requirements for environmental conditions can differ (Rossi et al. 2001; Brennan et al., 2005). Most frequent *Fusarium* species in Europe are now *F. graminearum* and *F. culmorum* (Mesterházy, 2003). Both species produce mainly DON, zearalenone (ZEA) and nivalenol (Logrieco et al. 2003), and *F. culmorum* can also produce moniliformin (Desjardins, 2006). Very frequent species detected on cereals in Europe are also *F. poae* and *F. avenaceum* (Vogelgsang, 2005). *F. poae* produces a series of tri-

možná koprodukcí nivalenolu (trichothecen B) a T-2 toxinu (trichothecen A). U druhu *F. avenaceum* nebyla naopak produkce trichothecenů ani zearalenonu vůbec prokázána (Desjardins, 2006).

Obsah některých mykotoxinů je v potravinách a v surovinách pro jejich výrobu limitován. Nařízení Komise (ES) č. 1881/2006, které stanovuje maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách a v surovinách pro jejich výrobu, uvádí maximální limit pro obsah DON v pšenici, ječmeni a žitě ve výši 1250 µg/kg. Z fuzáriových mykotoxinů dále stanovuje maximální limit pro ZEA, který je pro pšenici, ječmen, žito a oves 100 µg/kg.

Cílem této práce bylo:

- Zhodnotit výskyt mykotoxinů DON a ZEA v ječmeni sklizeném v ČR v letech 2005–2010.
- Zjistit četnost výskytu patogenů *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum* a *F. poae* na ječmeni sklizeném v ČR v letech 2006–2009.
- Vyhodnotit vliv ročníku, předplodiny, odrůdy a lokality původu na výskyt DON v ječmeni v podmínkách ČR.

## 2 METODIKA

### Strategie získávání vzorků ječmene

Vzorky ječmene byly vybírány z běžné sklizně v ČR. Jako základní soubor vzorků sloužil každoročně v letech 2005–2009 soubor cca 500 vzorků sladovnického ječmene, získávaný přímo od pěstitelů za účelem sledování technologické jakosti v rámci projektu MZE č. QG50041. Z tohoto souboru vzorků byl v každém sklizňovém roce vytvořen podsoubor 50–60 vzorků tak, aby počty vzorků z jednotlivých krajů odpovídaly přibližně tamním osevním plochám. V roce 2010 měl základní soubor 300 vzorků, výběr podsouboru byl realizován stejným způsobem. Vzorky byly odebírány pěstiteli ihned po sklizni. Celkem bylo v letech 2005–2010 na obsah DON analyzováno 327 vzorků sladovnického ječmene. U vzorků byly známy následující údaje: původ (kraj, okres) (obr. 1), odrůda (obr. 2) a předplodina. Obsah ZEA byl analyzován pro náhodně vybraných 100 vzorků sklizených v letech 2006 (20 vzorků), 2007 (20 vzorků) a 2010 (60 vzorků). Determinace patogenů *Fusarium* byla provedena pro vzorky ječmene sklizené v letech 2006–2009 (190 vzorků).

### Analýzy a hodnocení obsahu mykotoxinů

Obsah mykotoxinů byl analyzován metodou ELISA s využitím kitů firmy R-Biopharm AG (Darmstadt, Německo). Pro analýzu DON byla použita kombinace kitů RIDASCREEN®DON a RIDACREEN®FAST DON. Limit kvantifikace (LOQ) pro DON činil 40 µg/kg. Pro analýzu ZEA byla použita kombinace kitů RIDASCREEN®ZEA a RIDASCREEN®FAST ZEA. LOQ pro ZEA činil 2 µg/kg. Analýzy byly prováděny

chothecene mycotoxins and possible simultaneous production of nivalenol (trichothecene B) and T-2 toxin (trichothecene A) is reported. On the contrary, production of neither trichothecenes nor zearalenone has been confirmed for *F. avenaceum* (Desjardins, 2006).

Limits for some mycotoxins in foodstuffs and raw materials intended for their production have been established. Commission Regulation (EC) No. 1881/2006, setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs and raw materials for their production, allows the maximum DON content in wheat, barley and rye on the level of 1250 µg/kg. Of other *Fusarium* mycotoxins, it determines the maximum ZEA level of 100 µg/kg in wheat, barley, rye and oats.

The objectives of the study were to:

- evaluate the occurrence of mycotoxins DON and ZEA in barley harvested in the Czech Republic (CR) in 2005–2010,
- determine the occurrence frequency of the pathogens *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum* and *F. poae* on barley harvested in the CR in 2006–2009,
- evaluate the effects of the year, preceding crop, variety and location of origin on the occurrence of DON in barley under conditions across the CR.

## 2 MATERIAL AND METHODS

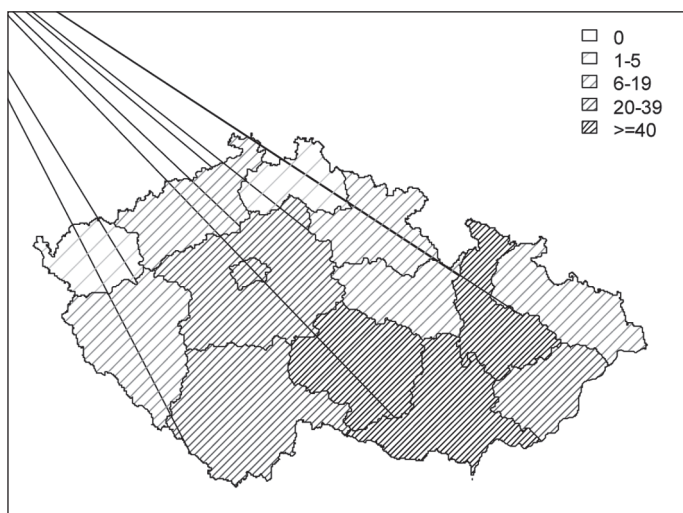
### Strategy of obtaining barley samples

Samples were selected from barley grain harvested in the CR. In 2005–2009, a basic set of samples comprised every year about 500 samples of malting barley provided by growers for monitoring malting quality within project no. QG50041 financed by the Ministry of Agriculture. In each harvest year, a subset of 50–60 samples was formed so that numbers of samples from individual regions corresponded approximately to local planted areas. The basic set in 2010 contained 300 samples; the subset was formed in the same way. The samples were collected by growers immediately after harvest. In 2005–2010, a total of 327 samples of malting barley were analysed for DON content. The following data on samples were known: origin (region, district) (Fig. 1), variety (Fig. 2) and preceding crop. ZEA content was determined in 100 randomly selected samples collected in 2006 (20 samples), 2007 (20 samples) and 2010 (60 samples). *Fusarium* pathogens were determined in barley samples taken in 2006–2009 (in total 190 samples).

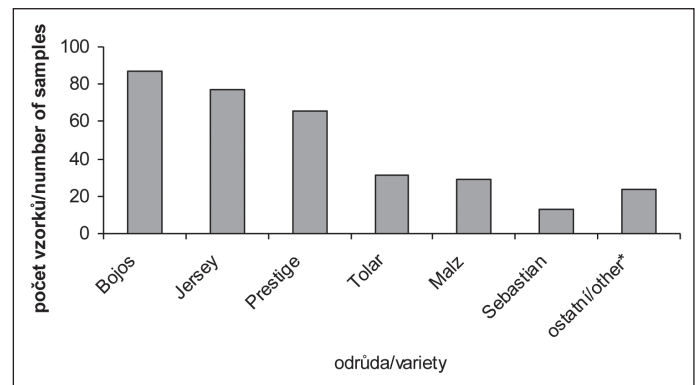
### Analyses and evaluation of mycotoxin content

The content of mycotoxins was analysed by an ELISA method using R-Biopharm AG kits (Darmstadt, Germany). A combination of RIDASCREEN®DON and RIDACREEN®FAST DON kits was used to determine DON. The limit of quantification (LOQ) for DON was 40 µg/kg.

Obr. 1 Počty vzorků ječmene analyzovaných na obsah deoxynivalenolu (DON) z jednotlivých krajů České republiky v letech 2005–2010, celkem 327 vzorků / Numbers of barley samples analysed for deoxynivalenol (DON) content from individual regions in the Czech Republic in 2005–2010, 327 samples



Obr. 2 Odrůdová skladba vzorků ječmene analyzovaných na obsah deoxynivalenolu (DON), sklizeň 2005–2010, ČR, celkem 327 vzorků / Varieties representing barley samples analysed for deoxynivalenol (DON) content, 2005–2010 harvests, Czech Republic, 327 samples



\* Jako odrůdy ostatní jsou označeny odrůdy s počtem vzorků < 10, tj. Advent, Akcent, Amarena, Anabel, Blaník, Diplom, Kompakt, Prudentia, Radegast, Reni, Scarlett, Tiffany, Westminster, Wintmalt, Xanadu / The others are varieties with numbers of samples < 10, i.e., Advent, Akcent, Amarena, Anabel, Blaník, Diplom, Kompakt, Prudentia, Radegast, Reni, Scarlett, Tiffany, Westminster, Wintmalt, and Xanadu

děny podle metodiky výrobce. Metody pro stanovení DON i ZEA jsou v laboratoři akreditovány Českým institutem pro akreditaci podle ČSN EN ISO/IEC 17025:2005 a kvalita výsledků analýz je pravidelně ověřována účastí v kruhových testech FAPAS®. Obsah mykotoxinů byl vyhodnocen s ohledem na maximální přípustné limity podle nařízení Komise (ES) č. 1881/2006. Jako pozitivní jsou v textu označovány vzorky s obsahem daného mykotoxinu nad LOQ.

**Determinace druhů Fusarium**

U vzorků ječmene byla molekulárními PCR metodami sledována přítomnost/nepřítomnost čtyř druhů *Fusarium*, a to *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum* a *F. poae*. DNA byla extrahována s využitím kitu DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) podle metodiky výrobce. Specifické primery pro jednotlivé druhy *Fusarium* byly použity podle výsledků, které publikovali Schilling et al., 2006) pro *F. culmorum* a *F. graminearum*, Turner et al., 1998, pro *F. avenaceum* a Parry a Nicholson, 1996.

**Statistické zpracování**

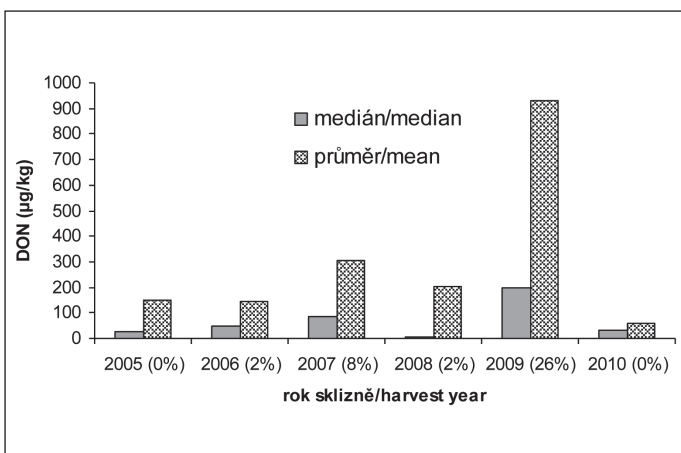
Statistické analýzy byly provedeny v programu Statistica Cz, verze 8.0 (Statsoft CR s.r.o.). Vzhledem k povaze dat byly uplatněny metody neparametrické statistiky. Pro hodnocení efektů jednotlivých faktorů (rok, odrůda, kraj, předplodina) byla použita Kruskal-Wallisova ANOVA (KVA) a mediánový test (MT). Vzhledem k odrůdové roztržitosti a k různé četnosti jednotlivých odrůd byly pro hodnocení vlivu odrůdy vybrány z datového souboru pouze odrůdy s dostatečným počtem vzorků (>10), což byly odrůdy Bojos, Jersey, Tolar, Malz, Prestige a Sebastian. Byla použita hladina významnosti 0,05. Pro výpočet průměrů byly hodnoty obsahu mykotoxinů s obsahem menším než LOQ uvažovány jako rovné hodnotě LOQ/6, tj. pro DON 7 µg/kg a pro ZEA 0,3 µg/kg. Jedná se o způsob použitý v nedávných přehledech výskytu mykotoxinů v Evropě umožňující srovnatelnost dat (an., 2003). Pro účely hodnocení vlivu předplodiny na obsah DON byly předplodiny roztrženy do tří skupin, a to kukuřici (zahrnující kukuřici na zrno i na siláž), obilovinu (zahrnující pšenici ozimou i jarní a ječmen ozimý i jarní) a předplodinu jinou (zahrnující brambory, vaječnou, jetel, mák, slunečnici, cukrovku, len, hořčici, řepku).

**3 VÝSLEDKY A DISKUSE**

**Obsah mykotoxinů**

Vzorky ječmene s obsahem DON vyšším než maximální limit v potravinářských obilovinách 1250 µg/kg byly v 5 ze 6 sledovaných let nalezeny jen výjimečně: v roce 2005 i 2010 splnily limit všechny vzorky, v roce 2006 a 2008 limit překročil 1 vzorek, v roce 2007 4 vzorky (tab. 1, obr. 3). Výjimkou byl rok 2009, kdy limit překro-

Obr. 3 Průměrný obsah deoxynivalenolu (DON) (průměry a mediány) v ječmeni sklizeném v ČR v letech 2005–2010, celkem 327 vzorků. V závorce jsou uvedeny % vzorků překračujících v daném roce limit 1250 µg/kg / Mean deoxynivalenol (DON) content (means and medians) in barley harvested in the Czech Republic in 2005–2010, 327 samples. Percentages of samples exceeding the limit of 1250 µg/kg in the given year are in parentheses



A combination of RIDASCREEN®ZEA and RIDASCREEN®FAST ZEA kits was used in determining ZEA. LOQ for ZEA was 2 µg/kg. Analyses were carried out according to guidelines from the manufacturer. The methods for determining DON and ZEA have been accredited in the laboratory by the Czech Accreditation Institute according to Czech national standard ČSN EN ISO/IEC 17025:2005 and quality of results of analyses is regularly verified in ring tests FAPAS®. The content of mycotoxins was evaluated with a view to maximum acceptable levels according to Commission Regulation (EC) No. 1881/2006. Positive samples are those with the content of the given mycotoxin above LOQ.

**Determination of Fusarium species**

Barley samples were analysed for the presence/absence of four *Fusarium* species, *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum* and *F. poae* using molecular PCR-based techniques. DNA was extracted using a DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) according to guidelines from the manufacturer. *Fusarium* species-specific primers were employed according to results published by Schilling et al., 2006 for *F. culmorum* and *F. graminearum*, Turner et al., 1998 for *F. avenaceum*, and Parry and Nicholson, 1996 for *F. poae*.

**Statistical assessment**

Data were analysed using the Statistica Cz software, version 8.0 (Statsoft CR s.r.o.). Because of the character of data, methods of non-parametric statistics were used. Kruskal-Wallis ANOVA (KVA) and median test (MT) were employed to evaluate effects of individual factors (year, variety, region and preceding crop). Due to a large number of varieties and their various frequencies, for evaluating of the variety effect only varieties with sufficient numbers of samples (>10) were selected, which were Bojos, Jersey, Tolar, Malz, Prestige and Sebastian. The level of significance was 0.05. To calculate means, levels of mycotoxins with the content lower than LOQ were considered equal to the level of LOQ/6, i.e. 7 µg/kg for DON and 0.3 µg/kg for ZEA. This is the method used in recent surveys of mycotoxin occurrence in Europe enabling to compare data (An., 2003). To evaluate the effect of preceding crop on DON content, preceding crops were divided into the three groups: maize (both for grain and silage), cereal crop (winter and spring wheat, and winter and spring barley) and other preceding crop (including potatoes, alfalfa, clover, poppy, sunflower, sugar beet, flax, mustard and oilseed rape).

**3 RESULTS AND DISCUSSION**

**Mycotoxin content**

Barley samples with DON content higher than the maximum level in food cereals (1250 µg/kg) were detected rarely in 5 of the 6 years

Tab. 1 Obsah deoxynivalenolu (DON) v ječmeni sklizeném v ČR v letech 2005–2010, 327 vzorků / Deoxynivalenol (DON) content in barley harvested in the Czech Republic in 2005–2010, 327 samples

	2005	2006	2007	2008	2009	2010
počet analyzovaných vzorků celkem / total number of analysed samples	60	57	50	50	50	60
% vzorků s obsahem DON > 40 µg/kg / % samples with DON content > 40 µg/kg	76%	81%	88%	74%	96%	63%
% vzorků s obsahem DON > 500 µg/kg / % samples with DON content > 500 µg/kg	8%	5%	12%	10%	42%	0%
% vzorků s obsahem DON > 1250 µg/kg / % samples with DON content > 1250 µg/kg	0%	2%	8%	2%	26%	0%
<b>Obsah DON (µg/kg) / DON content</b>						
maximum / maximum	707	1 599	1 738	3 710	7 050	227
průměr / mean	156	143	305	202	932	54
median / median	90	63	191	70	430	50

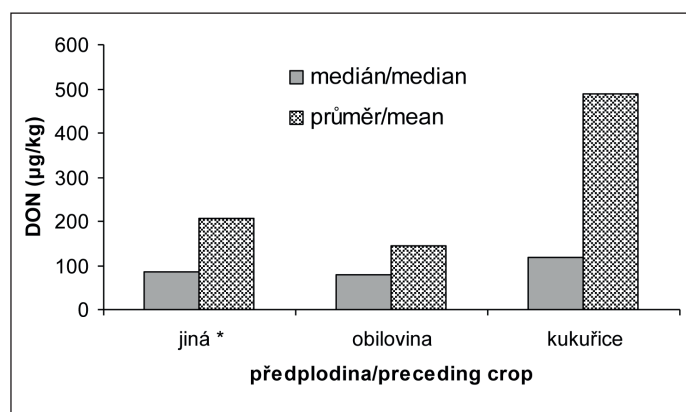


čilo 13 z 50 analyzovaných vzorků, tj. 26 %. V roce 2009 byla také zjištěna nejvyšší průměrná (932 µg/kg) i maximální hodnota (7050 µg/kg) obsahu DON a zároveň nejvyšší podíl pozitivních vzorků ječmene (96 %). Naopak nejnižší podíl pozitivních vzorků byl zjištěn v roce 2010 (63 %) a v tomto roce byla také zjištěna nejnižší průměrná (54 µg/kg) i maximální hodnota (227 µg/kg) obsahu DON v ječmeni. Na obsah ZEA bylo analyzováno 100 vzorků ječmene ze sklizní let 2006, 2007 a 2010 (tab. 2). Byly zjištěny 3 vzorky s obsahem nad maximální limit pro potravinářské obiloviny (100 µg/kg), všechny pocházely z roku 2006. V tomto roce byly na obsah ZEA pozitivní všechny analyzované vzorky ječmene a byla také zjištěna nejvyšší maximální (222 µg/kg) i průměrná (49 µg/kg) hodnota ZEA. V ostatních letech byly hodnoty obsahu ZEA velmi nízké, zejména v roce 2010. V tomto roce bylo na obsah ZEA pozitivních 22 % vzorků, maximální zjištěná hodnota činila 14,4 µg/kg a průměrná hodnota 1,4 µg/kg. Mezi obsahem DON a ZEA byla zjištěna kladná, statisticky průkazná ( $p=0,004$ ) závislost.

#### Vliv ročníku, odrůdy, předplodiny a původu vzorků na obsah mykotoxinů

V roce 2009 byly hodnoty obsahu DON průkazně vyšší než v ostatních letech (prokázáno metodou KVA i MT). Druhé nejvyšší hodnoty byly zjištěny v roce 2007. Vliv odrůdy na obsah DON byl prokázán metodou KVA, u metody MT byla průkaznost hraniční ( $p=0,054$ ). Významně nižší hodnoty měla odrůda Malz, nicméně četnost zastoupení odrůd v jednotlivých letech byla značně nevyvážená a odrůda Malz nebyla zastoupena v letech s vysokou úrovní kontaminace (2009, 2007). Mezi ostatními odrůdami nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly. Vliv předplodiny na obsah DON byl prokázán statistickou analýzou MT. Nejvyšší hodnoty obsahu DON byly zjištěny po kukuřici (obr. 4). Rozdíl mezi předplodinou obilovinou a předplodinou jinou byl statisticky nevýznamný. Vliv kraje na obsah DON nebyl prokázán. Na obsah ZEA měl statisticky průkazný vliv pouze ročník (KVA), v roce 2006 byl obsah ZEA průkazně vyšší než v ostatních letech. V literatuře se uvádí, že ZEA je produkován patogeny *Fusarium* v zrna zejména v pozdějších růstových fázích, na rozdíl od DON, který je tvořen dříve a ve stadiu plné zralosti může jeho koncentrace v klasech dokonce klesat (Matthäus et al., 2004). V roce 2006 byla u nás sklizeň ječmene poznamenána deštivým počasím, které nastoupilo shodně téměř na celém území ČR dne 3. 8. 2006, tedy ve stadiu plné zralosti obilovin a trvalo 10 dní (Prokeš, 2006). Je možné, že tyto srážky byly příčinou vyššího obsahu ZEA v ječmeni v tomto sklizňovém roce.

Obr. 4 Srovnání obsahu DON (průměry a mediány) v jarním ječmeni pěstovaném po předplodině kukuřici (131 vzorků), obilovině (94 vzorků) a jiných předplodinách (102 vzorků), sklizeň ČR, 2005–2010, celkem 327 vzorků / A comparison of DON content (means and medians) in spring barley grown after maize (131 samples), cereal crop (94 samples) and other preceding crops (102 samples), Czech Republic, 2005–2010, 327 samples



\* Jako předplodina jiná jsou zahrnuty předplodiny: brambory, vojtěška, jetel, mák, slunečnice, cukrovka, len, hořčice, řepka / Other preceding crop includes: potatoes, alfalfa, clover, poppy, sunflower, sugar beet, flax, mustard, oilseed rape

examined. All samples met the limit in 2005 and 2010, one sample exceeded the limit in 2006 and 2008, and four samples in 2007 (Tab. 1, Fig. 3). An exception was the year 2009 when the limit was exceeded in 13 of 50 samples analysed, i.e. 26 %. In this year, the highest mean (932 µg/kg) and maximum (7050 µg/kg) DON content as well as the highest percentage of positive barley samples (96 %) were found. In contrast, the lowest percentage of positive samples was assessed in 2010 (63 %) and in this year, the lowest mean (54 µg/kg) as well as maximum (227 µg/kg) DON content was determined in barley. ZEA content was measured in 100 barley samples from 2006, 2007 and 2010 harvests (Tab.2). Three samples with the content exceeding the maximum level for food cereals (100 µg/kg) were found; all of them were collected in 2006. In this year, all analysed barley samples were positive for ZEA and the highest maximum (222 µg/kg) and mean (49 µg/kg) levels of ZEA content were also found. These values were very low in the other years, especially in 2010. In this year, 22 % of samples were positive for ZEA content when the maximum level was 14.4 µg/kg and mean level was 1.4 µg/kg. A positive significant correlation ( $p=0.004$ ) was found between DON and ZEA content.

#### Effects of the year, variety, preceding crop and origin of samples on the content of mycotoxins

The content of DON was significantly higher in 2009 than was in the other years (confirmed by KVA and MT methods). Second highest levels were found in 2007. The effect of variety on DON content was confirmed using the KVA method, while the significance was on the limit ( $p=0.054$ ) using the MT method. Significantly lower levels were assessed in the variety Malz, however, the frequency of varieties in individual years was greatly unbalanced and Malz samples were not collected in years with high contamination levels (2009 and 2007). There were no significant differences between the other varieties. The effect of preceding crop on DON content was confirmed using the statistical analysis MT. The highest DON content was found after maize (Fig. 4). The difference between the preceding crop cereal and other preceding crop was not statistically significant. The effect of the region on DON content was not confirmed. The content of ZEA was affected statistically significantly only by the year (KVA) and it was significantly higher in 2006 than was in the other years. ZEA is reported to be produced in grain by *Fusarium* pathogens at later growth stages in contrast to DON that is produced earlier and its concentration in heads can even decrease at the stage of full ripeness (Matthäus et al., 2004). The 2006 harvest was influenced by rainy weather that began nearly in the whole territory of the Czech Republic on August 3, it means at the stage of full ripeness, and took 10 days (Prokeš, 2006). It is possible that the rainfall caused the higher content of ZEA in barley in this harvest year.

Tab. 2 Obsah zearalenonu (ZEA) v ječmeni sklizeném v ČR v letech 2006, 2007 a 2010, 100 vzorků / Zearalenone (ZEA) content in barley harvested in the Czech Republic in 2006, 2007 and 2010, 100 samples

	2006	2007	2010
počet analyzovaných vzorků celkem / total number of analysed samples	20	20	60
% vzorků s obsahem ZEA > 2 µg/kg / % samples with ZEA content >2 µg/kg	100%	45%	22%
% vzorků s obsahem ZEA > 100 µg/kg / % samples with ZEA content >100 µg/kg	15%	0%	0%
	<b>Obsah ZEA (µg/kg) / ZEA content</b>		
maximum / maximum	222	48	14
průměr / mean	49	7	1,4
median / median	31	<2	<2

Tab. 3 Výskyt patogenů *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum* a *F. poae* na ječmeni, sklizeň 2006–2009, ČR, 190 vzorků / The occurrence of *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum* and *F. poae* pathogens on barley, Czech Republic, 2006–2009 harvests, 190 samples

Druh <i>Fusarium</i> / <i>Fusarium species</i>	Počet/podíl vzorků s potvrzenou přítomností daného patogena v zrnu / Number/percentage of samples with the confirmed presence of the pathogen in grain							
	2006		2007		2008		2009	
<i>F. avenaceum</i>	12	30%	0	0%	0	0%	41	82%
<i>F. culmorum</i>	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
<i>F. graminearum</i>	4	10%	7	14%	4	8%	48	96%
<i>F. poae</i>	17	43%	50	100%	32	64%	47	94%

#### Druhy *Fusarium*

*F. poae* dominovalo na vzorcích ječmene ve všech sledovaných letech s výjimkou roku 2009 (tab. 3), kdy přibližně stejně často jako *F. poae* bylo zjištěno *F. graminearum*. V jednotlivých letech bylo *F. poae* zjištěno na 42,5 % (2006), 100 % (2007), 64 % (2008) a 94 % (2009) vzorků. *F. graminearum* bylo s výjimkou roku 2009 nalézáno spíše sporadicky (max 14 % vzorků v roce 2007), v roce 2009 však bylo zjištěno na 96 % vzorků. *F. avenaceum* bylo zjištěno pouze v letech 2006 (30 % vzorků) a 2009 (82 % vzorků). *F. culmorum* nebylo zjištěno v žádném ze sledovaných let. Je zřejmá značná ročníková variabilita ve výskytu druhů *Fusarium*, přičemž úroveň obsahu DON korespondovala s výjimečně častými nálezy patogena *F. graminearum*. Absence druhu *F. culmorum* na jarním ječmeni v ČR byla zjištěna také sledováním provedeným na sklizni roku 2010 (Kmoč et al, 2011), zahrnujícím dvě lokality. Naopak jako nejčastěji se vyskytující druh *Fusarium* bylo *F. culmorum* zjištěno při analýzách vzorků ječmene sklizené 1997–1998 z jedné pokusné lokality ČR, následováno v četnosti druhy *F. poae* a *F. avenaceum* (Hýsek et al., 1999).

#### *Fusarium species*

*F. poae* predominated in barley samples in all years examined, except of 2009 (Tab. 3) when *F. graminearum* was detected approximately as often as *F. poae*. The latter was found in 42.5 % (2006), 100 % (2007), 64 % (2008) and 94 % (2009) of samples. The occurrence of *F. graminearum* was rather sporadic (maximum 14 % of samples in 2007) except of 2009 when it was found in 96 % of samples. *F. avenaceum* was detected only in the years 2006 (30 % of samples) and 2009 (82 % of samples). *F. culmorum* was not found in any of the years examined. There is apparent substantial seasonal variability in the occurrence of *Fusarium* species and the level of DON content corresponded to extremely frequent presence of *F. graminearum*. The absence of *F. culmorum* on spring barley in the CR was also documented by analyses of grain harvested in 2010 (Kmoč et al, 2011) at two locations. On the contrary, *F. culmorum* was found as the most frequent *Fusarium* species in barley samples collected from one experimental location in the CR in 1997–1998, followed by *F. poae* and *F. avenaceum* (Hýsek et al., 1999).

## 4 ZÁVĚR

Hlavní charakteristikou kontaminace ječmene sledovanými mykotoxiny DON a ZEA v letech 2005–2010 byla statisticky průkazná ročníková variabilita, stejně, jako bylo zjištěno v jiných obdobných průzkumech (Edwards, 2006). Podíl vzorků překračujících limit pro potravinářské obiloviny byl převážně malý a v některých sledovaných letech nulový. Výjimkou byl rok 2009, kdy limit pro maximální obsah DON překročilo 26 % sledovaných vzorků ječmene. Odpovídaly tomu také výjimečně hojné nálezy producenta tohoto mykotoxinu, patogena *F. graminearum*. Nejnižší úroveň kontaminace oběma sledovanými mykotoxiny DON i ZEA byla zjištěna v roce 2010. Kromě ročníku mají na úroveň obsahu fuzáriových mykotoxinů vliv také další faktory, jako jsou předplodina, odrůda a způsob pěstování (Ma et al., 2009; Schaafsma et al., 2005), které, v kombinaci s regionálními rozdíly počasí, mohou způsobit značnou variabilitu v rámci jednoho sklizňového ročníku. V našem sledování byl kromě vlivu ročníku statisticky prokázán vliv odrůdy a předplodiny. Zjištěné výsledky potvrdily průkazně vyšší obsah DON u ječmene pěstovaného po kukuřici. Za celkově převládající druh *Fusarium* na ječmeni v letech 2006–2009 v ČR je možno označit *F. poae*, který neprodukuje DON, ale patří do skupiny producentů trichothečenů A (např. HT-2 toxin, T-2 toxin, diacetoxyscirpenol). Proto by se měla u ječmene zaměřit pozornost také na sledování těchto mykotoxinů, kromě v současnosti limitovaných DON a ZEA. Úroveň kontaminace obilovin mykotoxiny a složení spektra jejich původců podléhají značné ročníkové variabilitě a jsou závislé na mnoha dalších faktorech. Pro praktické účely je proto důležité sledovat jejich výskyt každoročně, a to na dostatečně velkém, reprezentativním způsobem sestaveném souboru vzorků zahrnujícím různé lokality a způsoby pěstování. Způsob sestavení reprezentativního souboru vzorků s proporcionálně zastoupenými oblastmi pěstování a použitou agrotechnikou je pro získání spolehlivých výsledků zásadní. Nedílnou součástí sledování kontaminace obilovin mykotoxiny by mělo být i sledování výskytu jejich původců, druhů *Fusarium*.

#### Poděkování

Výsledky byly získány řešením výzkumných projektů MZe č. QG60047 a QG50041, výzkumného záměru MSM 2532885901 a s využitím institucionální podpory na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace (rozhodnutí MZe ČR č. RO0211 ze dne 28. 2. 2011).

## 4 CONCLUSIONS

A main characteristic of barley contamination with mycotoxins DON and ZEA in 2005–2010 was a significant seasonal variability, which was also assessed in other similar surveys (Edwards, 2006). The percentage of samples exceeding the limit for food cereals was mostly low and even zero in some years. The year 2009 was an exception when the allowed maximum DON level was exceeded by 26 % of barley samples examined. It also corresponded to extremely frequent detection of the producer of this mycotoxin, the pathogen *F. graminearum*. The lowest level of contamination with the two monitored mycotoxins, DON and ZEA, was determined in 2010. Beside the year, the level of *Fusarium* mycotoxins in grain is also affected by other factors, such as preceding crop, variety and cropping practice (Ma et al., 2009; Schaafsma et al., 2005), which can, in combination with regional differences in weather conditions, result in considerable variability within one harvest year. In our survey, in addition to the effect of the year, the effect of the variety and preceding crop was statistically confirmed. Our results demonstrated significantly higher DON content in barley grown after maize. In general, *F. poae* can be considered a prevailing *Fusarium* species on barley in the CR in the period 2006–2009. This pathogen does not produce DON, but it belongs to the group of trichothecene A producers (e.g. HT-2 toxin, T-2 toxin, diacetoxyscirpenol). Therefore, in barley an attention should also be paid to monitoring these mycotoxins in addition to DON and ZEA. The level of cereal contamination by mycotoxins and spectrum of their pathogens are affected by a considerable seasonal variability and are dependent on many other factors. For practical reasons, therefore, it is important to monitor their occurrence every year and on a sufficiently large, representative set of samples covering various locations and cropping practices. The way of forming such a set of samples with proportionally represented growing regions and agronomic practice is crucial for achieving reliable results. An integral part of monitoring cereal contamination with mycotoxins should also be observing the occurrence of their producers, *Fusarium* species.

#### Acknowledgements

The results were obtained under the research projects funded by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic nos. QG60047 and QG50041, and the research plan of the Ministry of Education, Sports and Youth of the Czech Republic MSM 2532885901 and using the institutional support for long-term development (decision of the Ministry of Agriculture No. RO0211 dated 28. 2. 2011).

## Literatura / References

- Anonymous 2003. SCOOP TASK 3.2.10 Collection of occurrence data of *Fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU Member States. Brussels (Belgium): European Commission; [cited 11.10. 2011 ] Available from: <http://ec.europa.eu/food/fs/scoop/task3210.pdf>
- Brennan, J.M., Egan, D., Cooke, B.M., Doohan, F.M., 2005: Effect of temperature on head blight of wheat caused by *Fusarium culmorum* and *F. graminearum*. *Plant Pathol.* **54**:156–160.
- Campbell, H., Choo, T.M., Vigier, B., Underhill, L., 2002: Comparison of mycotoxin profiles among cereal samples from eastern Canada. *Can. J. Bot.* – *Rev. Canadienne Botanique* **80**: 526–532.
- Desjardins, A.E., 2006: *Fusarium* Mycotoxins. Chemistry, Genetics, and Biology. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA.
- Edwards, S.G., 2006: *Fusarium* mycotoxin content of UK organic and conventional barley. *Food Addit. Contam.* **26**: 1185–1190.
- Hýsek, J., Váňová, M., Hajšlová, J., Radová, Z., Koutecká, J., Tvarůžek, L., 1999: Fusariose of barley with emphasis on the content of trichothecenes. *Plant Prot. Sci.* **35**: 96–102.
- Jones, R.K., Mirocha, C.J., 1999: Quality parameters in small grains from Minnesota affected by *Fusarium* head blight. *Plant Dis.* **83**: 506–511.
- Kmoch, M., Šafránková, I., Holková, L., Pokorný, R., Marková, J., 2011: Fungi of *Fusarium* sp. in naturally infected malting barley varieties/lines (*Hordeum vulgare* L.) and their identification and quantification by the Real-Time PCR method. *Kvasny Prum.* **57**: 203–208.
- Komise evropských společenství: Nařízení Komise (ES) č. 1881/2006 ze dne 19. prosince 2006, kterým se stanoví limity některých kontaminujících látek v potravinách. Úřední věstník Evropské Unie, L364.
- Langevin, F., Eudes, F., Comeau, A., 2004: Effect of trichothecenes produced by *Fusarium graminearum* during *Fusarium* head blight development in six cereal species. *Eur. J. Plant Pathol.* **110**: 735–746.
- Langseth, W., Elen, O., 1997: The occurrence of deoxynivalenol in Norwegian cereals. Differences between years and districts, 1988–1996. *Acta Agric. Scand.* **B. 47**: 176–184.
- Logrieco, A., Bottalico, A., Mulé, G., Moretti, A., Perrone, G., 2003: Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean crops. *Eur. J. Plant Pathol.* **109**: 645–667.
- Ma, H.M., Ge, H., Zhang, X., Lu, W., Yu, D., Chen, H., Chen, J., 2009: Resistance to *Fusarium* head blight and deoxynivalenol accumulation in Chinese barley. *J. Phytopathol.* **157**: 166–171.
- Matthäus, K., Dänicke, S., Vahjen, W., Simon, O., Wang, J., Valenta, H., Meyer, K., Strumpf, A., Ziesenib, H., Flachowsky, G., 2004: Progression of mycotoxin and nutrient concentrations in wheat after inoculation with *Fusarium culmorum*. *Arch. Anim. Nutr.* **58**: 19–35.
- Mesterházy, A., 2003: Breeding wheat for *Fusarium* head blight resistance in Europe. In: *Fusarium Head Blight of Wheat and Barley*. Ed. Leonard, K.J., Bushnell, W.R., The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA: 312 pp.
- Parry, D.W., Nicholson, P., 1996: Development of a PCR assay to detect *Fusarium poae* in wheat. *Plant Pathol.* **45**: 383–391.
- Prokeš, J., 2006: Jakost sladovnického ječmene sklizně 2006 v ČR. *Kvasny Prum.*: 355–358.
- Rossi, V., Ravanetti, A., Patteri, E., Giosue, S., 2001: Influence of temperature and humidity on the infection of wheat spikes by some fungi causing *Fusarium* head blight. *J. Plant Pathol.* **83**: 189–198.
- Schaafsma, A.W., Hooker, D.C., Miller, J.D.: Progress and limitations with respect to pre-harvest forecasting of *Fusarium* toxins in grains. *Phytopathology* **95** suppl., [np].
- Schilling, A.G., Möller, E.M., Geiger, H.H., 2006: Polymerase chain reaction-based assays for species-specific detection of *Fusarium culmorum*, *F. graminearum* and *F. avenaceum*. *Mol. Plant Pathol.* **86**: 515–522.
- Turner, A.S., Lees, A.K., Rezanoor, H.N., Nicholson, P., 1998: Refinement of PCR-detection of *Fusarium avenaceum* and evidence from DNA marker studies for phenetic relatedness to *Fusarium tricinctum*. *Plant Pathol.* **47**: 278–288.
- Vogelgsang, S., Sulyok, M., Bänziger, I., Krska, R., Schuhmacher, R., Forrer, H.R., 2005.: Effect of fungal strain and cereal substrate on *in vitro* mycotoxin production by *Fusarium poae* and *Fusarium avenaceum*. *Food Addit. Contam.* **25**: 754–757.
- Xu, X.M., Parry, D.W., Nicholson, P., Thomsett, M.A., Simpson, D., Edwards, S.G., Cooke, B.M., Doohan, F.M., Brennan, J.M., Moretti, A., Tocco, G., Mule, G., Hornok, L., Giczey, G., Tatnell, J., 2005: Predominance and association of pathogenic fungi causing *Fusarium* ear blight in wheat in four European countries. *Eur. J. Plant Pathol.* **112**: 143–154.

Recenzovaný článek / Reviewed paper

Do redakce došlo / Manuscript received: 27. 11. 2011

Přijato k publikování / Accepted for publication: 20. 2. 2012