

UNIVERZA V MARIBORU
FAKULTETA ZA KMETIJSTVO IN BIOSISTEMSKO VEDE

OBVLADOVANJE POJAVA TRIHOTECENSKIH
MIKOTOKSINOV (DEOKSINIVALENOL IN NIVALENOL) V
NEINDUSTRIJSKI VERIGI PRIDELAVE IN PREDELAVE
KRUŠNIH ŽIT

DOKTORSKA DISERTACIJA

MANAGEMENT OF TRICHOTHECENE MYCOTOXINS
(DEOXYNIVALENOL AND NIVALENOL) IN NON-
INDUSTRIAL CEREAL PRODUCTION AND PROCESSING
CHAIN

Ph. D. THESIS

Maribor, 2013

Aleš KOLMANIČ

UNIVERZA V MARIBORU
FAKULTETA ZA KMETIJSTVO IN BIOSISTEMSKO VEDE
KMETIJSTVO

OBVLADOVANJE POJAVA TRIHOTECENSKIH
MIKOTOKSINOV (DEOKSINIVALENOL IN NIVALENOL) V
NEINDUSTRIJSKI VERIGI PRIDELAVE IN PREDELAVE
KRUŠNIH ŽIT

DOKTORSKA DISERTACIJA

MANAGEMENT OF TRICHOTHECENE MYCOTOXINS
(DEOXYNIVALENOL AND NIVALENOL) IN NON-
INDUSTRIAL CEREAL PRODUCTION AND PROCESSING
CHAIN

Ph. D. THESIS

Maribor, 2013

Aleš KOLMANIČ

POPRAVKI

Doktorska disertacija je bila opravljena v okviru podiplomskega študija Kmetijstva na Fakulteti za kmetijstvo in biosistemske vede Univerze v Mariboru.

Senat Univerze v Mariboru je na svoji 9. redni seji dne 27. 3. 2012 potrdil temo doktorske disertacije. Za mentorja je bil imenovan izr. prof. dr. Mario Lešnik. Komisija za oceno doktorske disertacije je bila imenovana na 15. redni seji Senata Fakultete za kmetijstvo in biosistemske vede dne 9. 2. 2012. Poročilo Komisije za oceno doktorske disertacije je bilo obravnavano na 18. redni seji Senata Fakultete za kmetijstvo in biosistemske vede dne 30. 1. 2013, kjer je bila imenovana tudi Komisija za zagovor.

Komisijo za oceno doktorske disertacije sestavljajo:

Predsednik: **red. prof. dr. Branko Kramberger**

Mentor: **izr. prof. dr. Mario Lešnik**

Članica: **red. prof. dr. Martina Bavec**

Član: **izr. prof. dr. Franci Aco Celar**

Komisijo za zagovor doktorske disertacije sestavljajo:

Predsednik: **red. prof. dr. Branko Kramberger**

Mentor: **izr. prof. dr. Mario Lešnik**

Članica: **red. prof. dr. Martina Bavec**

Član: **izr. prof. dr. Franci Aco Celar**

Lektor: Alenka Brilej, profesorica slovenščine

Datum zagovora: 22. 2. 2013

Aleš Kolmanič

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Obvladovanje pojava trihotecenskih mikotoksinov (deoksinivalenol in nivalenol) v neindustrijski verigi pridelave in predelave krušnih žit

UDK: 633.11:632.48:664.641:664.661:664.72(043.3)=863

Da bi opravili analizo spreminjanja vsebnosti trihotecenskih mikotoksinov deoksinivalenol (DON) in nivalenol (NIV) v pridelovalni in predelovalni verigi, smo pšenico pridelovali v poljskih poskusih na majhnih parcelicah, jo poželi in očistili z različnimi napravami za čiščenje, nato smo jo zmleli v različne vrste moke in nazadnje spekli kruh. Izvedli smo tudi poskus skladiščenja moke v različnih skladiščnih razmerah. Štiri kultivarje pšenice z različno stopnjo odpornosti (tolerantnosti) na okužbe z glivami, ki povzročajo fuzariozo klasa (FHB), smo gojili v poljskih poskusih. Med cvetenjem smo pšenico okužili s sporami gliv iz rodu *Fusarium*. Požeto zrnje smo prečistili s pomočjo posebne čistilne naprave, ki je ločila zrnje v štiri velikostne razrede (F1 > 2,4 mm, F2 2,0–2,4 mm, F3 1,8–2,0 mm, F4 < 1,8 mm). Zrnje vsakega velikostnega razreda smo ročno ločili na štiri frakcije glede na pojav in intenziteto vidnih znamenj bolezni FHB (zrnje brez vsakih znamenj, zrnje s spremembo barve in brez sprememb v obliki, zrnje s spremembo barve in zmernimi spremembami v obliki ter zrnje s spremembo barve in velikimi spremembami v obliki). Vsebnost DON in NIV v zrnju različnih frakcij smo določili z uporabo tekočinske kromatografije (HPLC-UV). Izvedene so bile primerjave med vsebnostjo DON v zrnju pred čiščenjem in vsebnostjo v ločenih frakcijah po čiščenju. Stopnja učinkovitosti čiščenja (stopnja zmanjševanja vsebnosti DON ob čiščenju) je bila višja pri zmerno odpornem in občutljivem kultivarju kot pri FHB-tolerantnem kultivarju. Očiščeno zrnje brez vidnih znamenj okužb je pri tolerantnem kultivarju vsebovalo dvakrat več DON (870–1350 µg/kg) kot zrnje enake frakcije pri zmerno tolerantnem kultivarju (160–570 µg/kg) in primerljivo količino kot pri na FHB občutljivem kultivarju (905–1140 µg/kg). Rezultati poskusa kažejo na obstoj FHB-tolerantnih pšeničnih kultivarjev, ki imajo lahko velik del zrnja brez vidnih vizualnih znamenj okužb, ki lahko kljub odsotnosti znamenj okužb vsebujejo visoke vsebnosti DON. Takšnega zrnja pri postopkih priprave za mletje ne moremo odstraniti s standardnimi postopki čiščenja zrnja. Takšni tolerantni kultivarji pšenice lahko pripomorejo k zmanjšanju izgub pridelka zaradi FHB, vendar niso primerni za proizvodnjo polnozrnate moke v neindustrijskih predelovalnih sistemih. Poskus z mletjem in peko kruha je pokazal, da ta postopka značilno vplivata na vsebnost DON in NIV v kruhu. Preučeval se je vpliv treh mlevskih tehnik (standardno industrijsko mletje – IM, mlin kladivar – KL in tradicionalni mlevski kamen – MK) ter dveh načinov peke (v industrijski peči in v keramični krušni peči). Začetna vsebnost DON v zrnju je bila 1400–1900 µg/kg ter NIV 130–200 µg/kg in se je po mletju v tri tipe moke v moki gibala med 310–370 µg/kg DON in <50–70 µg/kg NIV pri industrijski moki – IM, 1060–1400 µg/kg DON in 60–87 µg/kg NIV v industrijski polnozrnati moki – KL ter 1100–1770 µg/kg DON in 80–95 µg/kg NIV v tradicionalni polnozrnati moki – MK. Povprečno zmanjšanje vsebnosti DON med peko kruha je bilo po 70-minutni peki (195–235 °C) 47,2 % pri peki v industrijski peči ter 48,7 % pri peki v keramični peči. Vsebnosti DON v kruhu so bile po peki v industrijski peči iz IM pod mejo 500 µg/kg, medtem ko so vrednosti pri kruhu, pripravljenem iz polnozrnate tradicionalne moke in pečenem v krušni peči gibale med 850 in 950 µg/kg. Rezultati poskusa s skladiščenjem moke v različni embalaži so pokazali, da ni bilo statistično značilnih razlik v spreminjanju vsebnosti DON v moki med skladiščenjem pri skladiščenju pri 10 °C in 25 °C. Po 120-dnevem skladiščenju so se vsebnosti DON in NIV zmanjšale za 0–29 % glede na začetne vrednosti in v odvisnosti od uporabljene embalaže. Največja redukcija vsebnosti mikotoksinov smo opazili pri KL- in MK-moki, pakirani v papirnate vrečke in skladiščeni pri 25 °C. Najmanjše zmanjšanje je bilo pri IM-moki, pakirani v zatesnjene plastične vrečke in skladiščeni pri 10 °C. Statistične analize so pokazale, da je na stopnjo ohranjanja DON signifikantno vplival material skladiščnih vrečk, vendar ni bilo povezave s tipom moke ali skladiščno temperaturo.

Ključne besede: mikotoksini, deoksinivalenol, pšenica, zrnje, kultivar, čiščenje, mletje, predelava, polnozrnata moka, ohranjanje toksinov, skladiščenje moke

OP: 162 str., 31 pregl., 9 slik, 260 ref.

KEY WORD DOCUMENTATION

Management of trichothecene mycotoxins (deoxynivalenol and nivalenol) in non-industrial cereal production and processing chain

UDC: 633.11:582.28:632.48:664.641:664.661:664.72(043.3)=863

To analyze the variation of content of trichothecene mycotoxins deoxynivalenol (DON) and nivalenol (NIV) within the cereal production and processing chain wheat was grown on small experimental plots. Grain was harvested, cleaned by different types of cleaning devices and processed to different types of flours from which bread was baked. Additionally storage of flours under different storage regimes was performed. Four wheat cultivars with different level of tolerance to *Fusarium* head blight (FHB) were grown in small plots and were inoculated with spores of *Fusarium* fungi during the anthesis to promote development of FHB. The harvested grain was cleaned by special cleaner which separated grain in 4 size fractions (F1 > 2.4mm, F2 2.0–2.4mm, F3 1.8–2.0mm, F4 < 1.8mm). All of the four grain size fractions were divided manually further in 4 sub-fractions according to the rate of FHB symptom expression (grain without any visible symptoms, grain with changes of colour without changes of shape, grain with changes in colour and moderate changes in shape or size and heavily infected malformed grain). Deoxynivalenol (DON) content in grain of different fractions was determined by HPLC-UV analysis. A comparisons between initial DON concentration before cleaning and DON concentration in individual fractions after cleaning were done. The cleaning efficacy (rate of DON concentration reduction) due to the cleaning and separating of grain in size fractions was higher in semi tolerant and susceptible cultivars than in FHB tolerant cultivar. In consequence of the low cleaning efficiency, cleaned grain of tolerant cultivar, without any symptom of FHB, contained twice more DON (870–1350 µg/kg) than cleaned and visually healthy grain of semi tolerant cultivar (160–570 µg/kg) and contained comparable amount of DON as susceptible cultivar (905–1140 µg/kg). Results of trial demonstrate the existence of FHB tolerant cultivar which can bear a high portion of visually healthy grain containing high levels of DON. That grain can not be removed during the standard grain cleaning process. Such tolerant cultivars can contribute a lot to minimisation of yield loss due the FHB, yet they are not suitable for utilisation in the whole-grain wheat flour production. Experiment with milling and baking has showed, that this procedures significantly affect retention of trichothecene toxins (DON and NIV). Impact of three milling techniques (industrial roller-grinder – IRG, grain hammer crusher – IHC, traditional millstone –OMS) and two baking techniques (industrial oven, traditional ceramic stove heated by wood) was observed. Initial values of DON and NIV in grain sample (2500 kg) ranged from 1400–1900 µg/kg and 130–200µg/kg, respectively, and were after processing 310–370µg/kg and <50–70µg/kg in standard industrial flour, 1060–1400 µg/kg and 60–87 µg/kg in industrial wholegrain flour and 1100–1770 µg/kg and 80–95 µg/kg in traditional wholegrain flour, respectively. Six diferent types of bread samples were prepared from this flours and analysed. The average reduction in DON concentration after baking (70 min. at 195–235 °C) was 47.2 % for bread baked in the industrial oven and 48.7 % for bread baked in the ceramic stove. Concentrations of DON in bread from industrial flour baked in industrial oven were under 500 µg/kg, but values in bread prepared from traditional wholegrain flour were higher (850–950 µg/kg). In the flour storage experiment, we didn't notice any significant differences between storing flour at 10 °C and 25 °C. After 120 days of storage, the concentrations of DON and NIV decreased between 0 % and 29 % compared to the initial values, depending on the combination of experimental factors. The greatest decrease in mycotoxin concentration was observed in the IHC and OMS flours packaged in paper bags and stored at 25 °C. The smallest decrease in mycotoxin concentration was observed in the IRG flours packaged in sealed plastic bags and stored at 10 °C. Statistical analysis showed that the level of retention of DON and NIV depended significantly on the type of packaging material, but did not depend on the type of flour or the storage temperature.

Key words: mycotoxins, deoxynivalenol, wheat, grain, cultivar, cleaning, milling, millstone, retention, whole-grain flour, wheat storage

NO: 162 p., 31 Tab., 9 Fig., 260 Ref.

Kazalo vsebine

1	UVOD	1
1.1	Povod za raziskavo	2
1.2	Cilji doktorske disertacije.....	3
1.3	Delovne hipoteze	4
2	PREGLED LITERATURE	6
2.1	Mikotoksini	6
2.2	Trihoteceni	8
2.2.1	Deoksinivalenol (DON) in žita	11
2.3	Ostali pomembnejši mikotoksini.....	13
2.3.1	Aflatoksini.....	13
2.3.2	Fumonizini	15
2.3.3	Ohratoksini	18
2.3.4	Patulin.....	20
2.3.5	Zearalenon.....	20
2.3.6	Ergot alkaloidi (ergotamini).....	22
2.4	Ukrepi za zmanjšanje primarnih kontaminacij z deoksinivalenolom (DON).....	23
2.4.1	Kolobarni sistem	24
2.4.2	Obdelava tal.....	25
2.4.3	Gnojenje	26
2.4.4	Čas setve.....	26
2.4.5	Uporaba sort, odpornih na okužbe z glivami, tvorkami mikotoksinov, ter genetsko spremenjenih rastlin	27
2.4.6	Kemično zatiranje gliv, povzročiteljic fuzarioze klasa	29
2.4.7	Biotično zatiranje gliv, povzročiteljic fuzarioze klasa	30
2.4.8	Zatiranje žuželk in pojav mikotoksinov	31
2.4.9	Možnosti zatiranja v ekološkem kmetijstvu.....	32
2.5	Modeli napovedovanja okužb z glivami, povzročiteljicami fuzarioz.....	33

2.6	Ukrepi za zmanjševanje pojava mikotoksinov pri in po žetvi.....	33
2.7	Možnosti za zmanjševanje vsebnosti mikotoksinov pri postopkih pred mletjem.....	35
2.7.1	Postopki skladiščenja	35
2.7.2	Sušenje in pranje zrnja	36
2.7.3	Postopki klasičnega čiščenja na strojih za čiščenje zrnja.....	36
2.7.4	Novejši postopki z uporabo težnostnih sit ter optičnega selekcioniranja zrn.....	37
2.8	Možnosti za zmanjševanje vsebnosti mikotoksinov pri postopkih mletja ...	38
2.8.1	Temperiranje – navlaževanje	38
2.8.2	Mletje	39
2.8.3	Postopki skladiščenja moke in drugih proizvodov.....	40
2.9	Zmanjševanje vsebnosti DON s postopki termične obdelave.....	42
2.9.1	Peka	42
2.9.2	Fermentacija	43
2.9.3	Kuhanje in vrenje	43
2.9.4	Ekstruzija.....	44
2.9.5	Cvrtje.....	44
2.9.6	Uporaba pare za razstrupljanje (detoksifikacijo)	44
2.10	Ostale metode razstrupljanja (detoksifikacije).....	45
2.10.1	Primerjava vsebnosti trihotecenskih mikotoksinov v zrnju ob žetvi med konvencionalno, integrirano in ekološko pridelavo	45
2.10.2	Primerjava vsebnosti trihotecenskih mikotoksinov v moki, proizvedeni na industrijski način, in v moki, proizvedeni po tradicionalnih neindustrijskih metodah mletja	52
2.10.3	Primerjava vsebnosti trihotecenskih mikotoksonov v industrijskih proizvodih iz krušnih žit z vsebnostjo v proizvodih iz neindustrijske proizvodnje.....	54
2.11	Klimatske spremembe in mikotoksini	58
3	MATERIAL IN METODE DELA	60

3.1	Zasnova in postopek poskusa za določanje povezave med vizualno ovrednoteno stopnjo okužbe različnih sort pšenice v poljskem poskusu v odvisnosti od lokacije in načina varstva pred boleznimi in vpliva le-tega na vsebnost mikotoksinov v zrnju pred in po zaključenem čiščenju zrnja	60
3.1.1	Okuževanje pšenice s trosi gliv in ocena stopnje okuženosti klasov	62
3.1.2	Aplikacija fungicidov	63
3.1.3	Postopek čiščenja zrnja	64
3.1.4	Vizualna ocena stopnje okužbe zrnja pred in po čiščenju.....	64
3.1.5	Statistične metode, uporabljene pri poskusu za določanje povezave med vizualno ovrednoteno stopnjo okužbe različnih sort pšenice v poljskem poskusu v odvisnosti od načina varstva pred boleznimi in vpliva le-tega na vsebnost mikotoksinov v zrnju pred in po zaključenem čiščenju zrnja	65
3.2	Zasnova poskusa za določanje zmanjševanja vsebnosti mikotoksinov med peko kruha.....	65
3.2.1	Zasnova mlevskega poskusa in tipi proizvedene moke	68
3.2.2	Priprava testa za peko kruha.....	68
3.2.3	Postopek peke kruha.....	69
3.2.4	Analiza vsebnosti DON in NIV	69
3.2.5	Statistične metode pri poskusu s postopki čiščenja in peke	70
3.3	Zasnova in postopek skladiščnega poskusa.....	70
3.3.1	Material za pakiranje in skladiščni pogoji.....	71
3.3.2	Analize mikotoksinov v moki	72
3.3.3	Statistične metode pri skladiščnem poskusu	73
4	REZULTATI Z RAZPRAVO	74
4.1	Rezultati vizualnega opazovanja stopnje okužbe klasov v poljskem poskusu.....	74
4.1.1	Razprava o rezultatih vizualnega opazovanja stopnje okuženosti s fuzariozami v poljskem poskusu	77
4.2	Rezultati analize vsebnosti mikotoksinov glede na frakcijo zrn, dobljeno pri čiščenju.....	80

4.2.1	Razprava o rezultatih vsebnosti DON v različnih velikostnih frakcijah zrnja in ocenjevanje zrnja po različnih simptomih okužb.....	84
4.3	Rezultati analize regresijske povezave med stopnjo okuženosti klasov s fuzariozami (% , FHB) oziroma deležem s fuzariozami okuženih zrn (% , FDK) in vsebnostjo DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v različnih frakcijah zrnja	87
4.3.1	Razprava o rezultatih analize regresijske povezave med stopnjo okuženosti klasov s fuzariozami (% , FHB) oziroma deležem s fuzariozami okuženih zrn (% , FDK) in vsebnostjo DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v različnih frakcijah zrnja.....	95
4.4	Rezultati analize zmanjševanja vsebnosti mikotoksinov pri čiščenju in med peko kruha.....	100
4.4.1	Razprava o rezultatih zmanjševanja vsebnosti DON in NIV med čiščenjem zrnja pred peko	104
4.4.2	Razprava o rezultatih zmanjševanja stopnje DON in NIV med mletjem	105
4.4.3	Razprava o rezultatih zmanjševanja vsebnosti DON in NIV med peko	106
4.5	Rezultati skladiščnega poskusa	107
4.5.1	Razprava o rezultatih spremembe vlažnosti zrnja in stopnje kislosti.....	113
4.5.2	Razprava o rezultatih spremembe vsebnosti DON in NIV tekom skladiščenja moke	114
5	SKLEPI	118
5.1	Določanje povezave med stopnjo okuženosti klasov in vsebnostjo DON v različnih frakcijah pred in po čiščenju zrnja pri različnih sortah	118
5.2	Vpliv sorte in pridelovalnega sistema na vsebnost DON po zaključenem procesu priprave na mletje.....	119
5.3	Pekovski poskus	120
5.4	Skladiščni poskus z moko	121
5.5	Ukrepi za zmanjševanje tveganj zaradi povečanih vsebnosti trihotecenskih mikotoksinov v izdelkih iz nekonvencionalnih žit, predelanih v neindustrijski predelovalni verigi (tehnološka navodila)	122
5.5.1	Ukrepi pred setvijo žit.....	122
5.5.2	Ukrepi med rastno dobo	123

5.5.3	Ukrepi po žetvi	126
6	POVZETEK	127
7	SUMMARY	129
8	LITERATURA	131
ZAHVALA		
PRILOGE		

Kazalo preglednic

Preglednica 1: Primerjava vsebnosti DON in prisotnosti boleznih med štirimi različnimi pridelovalnimi sistemi v treh preučevanih letih (Champeil s sod. 2004) ..	49
Preglednica 2: Rezultati nekaterih raziskav glede primerjave načinov mletja na vsebnosti DON v moki	52
Preglednica 3: Nekateri fuzarijski toksini v žitnih proizvodih z območja jugozahodne Nemčije (Schollenberger s sod. 1999).....	55
Preglednica 4: Pojav DON v različnih žitnih proizvodih (Codex Committee on Contaminants in Food 2010)	57
Preglednica 5: Optimalne temperature za rast in tvorbo nekaterih gliv ter mikotoksinov (Sanchis in Magan 2004).....	59
Preglednica 6: Vremenske razmere (temperatura in padavine) med rastno dobo za območje Brnik – letališče in Maribor – letališče (ARSO 2007, ARSO 2008).....	63
Preglednica 7: Primerjava pridelka (13-odstotna vlaga), distribucija velikostnih razredov zrnja med čiščenjem požetega zrnja, FHB-stopnja, določena vizualno pri BBCH 48 (odstotki okužene površine klasov), in vsebnost DON pred čiščenjem med štirimi pšeničnimi kultivarji s parcelic, škropljenih ali neškropljenih s fungicidi (lokacija Maribor). Podatki za razrede so izraženi kot odstotki mase posameznega razreda v celotni teži vzorca.....	74
Preglednica 8: Primerjava pridelka (13-odstotna vlaga), distribucija velikostnih razredov zrnja med čiščenjem požetega zrnja, FHB-stopnja, določena vizualno pri BBCH 48 (odstotki okužene površine klasov) in vsebnost DON pred čiščenjem med štirimi pšeničnimi kultivarji s parcelic, škropljenih ali neškropljenih s fungicidi (lokacija Jablje). Podatki za	

razrede so izraženi kot odstotki teže posameznega razreda v celotni teži vzorca.....	75
Preglednica 9: Primerjava razredov zrnja, urejenih glede na prisotnost FHB-simptomov, ocenjenih z vizualnim razvrščanjem semen pred (PČ) in po čiščenju (F1, F2). Lokacija Maribor.....	80
Preglednica 10: Primerjava razredov zrnja, urejenih glede na prisotnost FHB-simptomov, ocenjenih z vizualnim razvrščanjem semena pred (PČ) in po čiščenju (F1, F2). Lokacija Jablje.....	81
Preglednica 11: Vsebnost DON v zrnju ($\mu\text{g}/\text{kg}$) pred čiščenjem (PČ) in po čiščenju (KČ), v dveh velikostnih frakcijah zrnja štirih pšeničnih kultivarjev s parcel, škropljenih in neškropljenih s fungicidi. Lokacija Maribor	82
Preglednica 12: Vsebnost DON v zrnju ($\mu\text{g}/\text{kg}$) pred čiščenjem (PČ) in po čiščenju (KČ), v dveh velikostnih frakcijah zrnja štirih pšeničnih kultivarjev s parcel, škropljenih in neškropljenih s fungicidi. Lokacija Jablje	83
Preglednica 13: Prikaz tesnosti linearne povezave (dk – determinacijski koeficient) med ocenjeno stopnjo okuženosti klasov s fuzariozami (% , FHB) oziroma deležem s fuzariozami okuženih zrn (% , FDK) in vsebnostjo DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v različnih frakcijah zrnja pred in po čiščenju. Sorta Renan, lokacija Maribor	87
Preglednica 14: Prikaz tesnosti linearne povezave (dk – determinacijski koeficient) med ocenjeno stopnjo okuženosti klasov s fuzariozami (% , FHB) oziroma deležem s fuzariozami okuženih zrn (% , FDK) in vsebnostjo DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v različnih frakcijah zrnja pred in po čiščenju. Sorta Super žitarka, lokacija Maribor	88
Preglednica 15: Prikaz tesnosti linearne povezave (dk – determinacijski koeficient) med ocenjeno stopnjo okuženosti klasov s fuzariozami (% , FHB) oziroma deležem s fuzariozami okuženih zrn (% , FDK) in vsebnostjo DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v različnih frakcijah zrnja pred in po čiščenju. Sorta Bastide, lokacija Maribor	89

- Preglednica 16: Prikaz tesnosti linearne povezave (dk – determinacijski koeficient) med ocenjeno stopnjo okuženosti klasov s fuzariozami (% FHB) oziroma deležem s fuzariozami okuženih zrn (% FDK) in vsebnostjo DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v različnih frakcijah zrnja pred in po čiščenju. Sorta Incisif, lokacija Maribor 90
- Preglednica 17: Prikaz tesnosti linearne povezave (dk – determinacijski koeficient) med ocenjeno stopnjo okuženosti klasov s fuzariozami (% FHB) oziroma deležem s fuzariozami okuženih zrn (% FDK) in vsebnostjo DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v različnih frakcijah zrnja pred in po čiščenju. Sorta Renan, lokacija Jablje 91
- Preglednica 18: Prikaz tesnosti linearne povezave (dk – determinacijski koeficient) med ocenjeno stopnjo okuženosti klasov s fuzariozami (% FHB) oziroma deležem s fuzariozami okuženih zrn (% FDK) in vsebnostjo DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v različnih frakcijah zrnja pred in po čiščenju. Sorta Super žitarka, lokacija Jablje 92
- Preglednica 19: Prikaz tesnosti linearne povezave (dk – determinacijski koeficient) med ocenjeno stopnjo okuženosti klasov s fuzariozami (% FHB) oziroma deležem s fuzariozami okuženih zrn (% FDK) in vsebnostjo DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v različnih frakcijah zrnja pred in po čiščenju. Sorta Bastide, lokacija Jablje 93
- Preglednica 20: Prikaz tesnosti linearne povezave (dk – determinacijski koeficient) med ocenjeno stopnjo okuženosti klasov s fuzariozami (% FHB) oziroma deležem s fuzariozami okuženih zrn (% FDK) in vsebnostjo DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v različnih frakcijah zrnja pred in po čiščenju. Sorta Incisif, lokacija Jablje 94
- Preglednica 21: Nekateri lastnosti moke, proizvedene med poskusom. 100
- Preglednica 22: Vsebnost DON in NIV ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v pšeničnem zrnju pred in po čiščenju z uporabo industrijskih čistilcev zrnja (IČ) ali tradicionalnih čistilcev (TČ) ter redukcija (%) vsebnosti mikotoksinov med čiščenjem 101

Preglednica 23: Vsebnost DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v moki, mleti s tremi tehnikami mletja, vsebnost v kruhu po peki treh tipov moke v industrijski in keramični peči, ogrevani z lesom, in redukcija (%) vsebnosti mikotoksinov med mletjem in peko	102
Preglednica 24: Vsebnost NIV ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v moki, mleti s tremi tehnikami mletja, vsebnost v kruhu po peki treh tipov moke v industrijski in keramični peči, ogrevani z lesom, in redukcija (%) vsebnosti mikotoksinov med mletjem in peko	103
Preglednica 25: Pekovske lastnosti moke pred skladiščenjem.....	107
Preglednica 26: Povprečje (SE – standardna napaka povprečja) stopnje vlage in kislosti vzorcev moke na začetku (PS) in ob koncu 120-dnevnega skladiščenja (KS) v povezavi s tipom moke (TM), tipom embalaže (TE) in skladiščno temperaturo (ST).....	108
Preglednica 27: Povprečje (SE – standardna napaka povprečja) vsebnosti deoksinivalenola (DON) pred (PS) in po 120-dnevnem skladiščenju (KS) v povezavi s tipom moke (TM), skladiščno temperaturo (ST) in tipom embalaže (TE) z rezultati t-testov parjenih vzorcev za vsako specifično kombinacijo poskusnih dejavnikov.....	109
Preglednica 28: Povprečje (SE – standardna napaka povprečja) vsebnosti nivalenola (NIV) pred (PS) in po 120-dnevnem skladiščenju (KS) v odvisnosti od tipa moke (TM), skladiščnih temperatur (ST) in tipa embalaže (TE) z rezultati t-testa parjenih vzorcev za vsako specifično kombinacijo poskusnih vzorcev	110
Preglednica 29: Rezultati ANOVA-faktorske analize za relativno povprečje (rAs) vsebnosti deoksinivalenola in nivalenola	111
Preglednica 30: Povprečje (SE – standardna napaka povprečja) relativne vsebnosti deoksinivalenola (rKS, %) v odvisnosti od različnih tipov moke (TRM, IPM, ISM), skladiščne temperature (10 °C, 25 °C) in tipa embalaže (Pa, P11, P12).....	112

Preglednica 31: Povprečje (SE – standardna napaka povprečja) relativne vsebnosti nivalenola (rKS, %) v odvisnosti od različnih tipov moke (TRM, IPM, ISM), skladiščne temperature (10 °C, 25 °C) in tipa embalaže (Pa, P11, P12)	113
--	-----

Kazalo slik

Slika 1: Trihoteceni (Committee 1983).....	9
Slika 2: Deoksinivalenol (Tocris 2010).....	12
Slika 3: Aflatoksini (Food 1999).....	15
Slika 4: Fuminizini (Munkvold in Desjardins 1997).....	16
Slika 5: Ohratoksin A (Fermentek 2009)	19
Slika 6: Patulin (Fungal 2004).....	20
Slika 7: Zearalenon (Chemblink 2010)	21
Slika 8: Ergot (Romer 2012)	23
Slika 9: Zasnova poskusa, pri katerem smo ugotavljali zmanjševanje vsebnosti mikotoksinov med peko kruha.....	67

Okrajšave in simboli

DON – deoksinivalenol

NIV – nivalenol

ZEN – zearalenon

FUM – fumonisin

FHB – fuzarioza klasa (Fusarium head blight)

FDK – odstotek fuzarijsko poškodovanih zrn (Fusarium damaged kernels)

SE – standardna napaka povprečja

DK – determinacijski koeficient

PČ – pred čiščenjem

KČ – konec čiščenja

Brez FHB – ni zaznavnih znamenj okužbe zrnja

Col ch Ne SH – opažene spremembe barve, ni vidnih sprememb oblike in velikosti

Col ch M. SH – opažene spremembe barve in zmerne spremembe oblike in velikosti zrn

Col ch Sig. SH – signifikantne spremembe v barvi zrn, obliki in velikosti

PS – pred skladiščenjem

KS – konec skladiščenja

IVM – standardno industrijsko mletje

IMK – industrijsko mletje z mlinom kladivarjem

TMK – tradicionalno mletje z mlevskim kamnom

FN – padajoče število

ISM – industrijska standardna moka

IPM – industrijska polnozrnata moka

TRM – tradicionalna polnozrnata moka

NZ – neprečiščeno zrnje

IČ – industrijsko čiščenje

TČ – tradicionalno čiščenje

ČZ – čisto zrnje

≈ – približno

FFS – fitofarmaceutvska sredstva

1 UVOD

Mikotoksini so sekundarni metaboliti v presnovi gliv in predstavljajo nevarnost v prehrani ljudi in živali. Njihovo ime izvira iz grške besede *mycos*, ki pomeni plesen, ter latinske besede »toxicum«, kar pomeni strupen. Izraz »mikotoksin« so prvič uporabili leta 1962 (Bennet in Klinch 2003) po skrivnostni puranji X bolezni, v kateri je poginilo približno 100.000 puranov in so jo pozneje povezali z aflatoksinom iz plesni *Aspergillus flavus* Link, ki je bila na arašidih (Wannop 1961, Blout 1961, cit. po Bennet in Klinch 2003).

Murphy s sodelavci (2006) navaja, da so od več kot tisoč ugotovljenih mikotoksinov le nekaj sto neposredno našli v hrani za ljudi in krmi za živali in od tega jih le nekaj predstavlja tveganje za ljudi, medtem ko Bennet in Klinch (2003) ocenjujeta, da je bilo do leta 2003 ugotovljenih preko 400 mikotoksinov, vendar številka ni dokončna. Glive, ki oblikujejo mikotoksine, spadajo v rodove *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Stachbotrys* in *Trichoderma*, med temi pa glive iz rodov *Aspergillus*, *Fusarium* in *Penicillium* najpogosteje okužujejo gojene rastline v Evropi (Creppy 2002).

Klimatske razmere so najpomembnejši dejavnik, ki vpliva na pojav mikotoksinov v kmetijstvu, predvsem z določanjem temperaturno vodnega režima v določenih regijah, zato klimatologi opozarjajo, da bodo učinki klimatskih sprememb vplivali tudi na pojavnost prekomernih vsebnosti mikotoksinov v hrani ljudi in krmi živali (Russel s sod. 2010).

Mikotoksini so sekundarni produkti pri presnovi gliv in imajo relativno nizko molekularno maso ($MM \approx 700$). So stalna in resna grožnja zdravju ljudi in živali, ki pa ji šele v zadnjem času posvečamo večjo pozornost (Bennet in Klinch 2003). Med največje proizvajalke mikotoksinov v Evropi spadajo plesni iz rodov *Aspergillus*, *Fusarium* in *Penicillium*, med najpogostejše toksine, prisotne v hrani, pa spada prav deoksinivalenol (DON) (Creppy 2002). Čeprav na vsebnost mikotoksinov vpliva mnogo dejavnikov, so klimatske razmere

zdaleč najpomembnejši med njimi. Tako se danes, v letih s klimatsko ugodnimi pogoji za razvoj plesni, povzročiteljic mikotoksinov, praktično ne moremo izogniti njihovem pojavu. Za zagotavljanje »varne hrane« smo zato določili različne mejne vrednosti in predpise, ki regulirajo največje dovoljene količine toksinov v hrani in v proizvodih. Z razvitimi predpisi povzročamo ekonomske težave pridelovalcem, predelovalcem in prodajalcem hrane, vendar kljub temu tveganj zaradi pojava in zauživanja mikotoksinov ne moremo povsem preprečiti (Wo 2004). Večino pridelkov, ki po teh predpisih ni ustrezna za prehrano ljudi, nato pokrmimo živalim ali pa gredo v predelavo za živalsko hrano in tako se del toksinov preko živalskih produktov (mleko, meso, jajca itd.) spet vnese v prehrano ljudi. Očitno dejstvo je, da se zauživanju mikotoksinov ne moremo popolnoma izogniti.

1.1 Povod za raziskavo

Pri prehranjevanju smo vsakodnevno izpostavljeni majhnim količinam izločkov mikroorganizmov, med katerimi so mikotoksini, ki jih vsebujejo izdelki iz žit, med najpogostejšimi. To je povezano z dejstvom, da so ti izdelki zelo pomemben segment našega jedilnika. Z običajnimi pridelovalnimi tehnikami žit pogosto ni mogoče v popolnosti preprečiti razvoja gliv, ki oblikujejo mikotoksine. Pri žitih posvečamo veliko pozornost glivam iz rodu *Fusarium*, ki oblikujejo veliko število mikotoksinov (trihoteceni, zearelenoni, fumonisini itd.), ki so zdravju ljudi in živalim škodljivi. V pridelovalni in predelovalni verigi so potrebni zelo sistematični pristopi, da vsebnosti mikotoksinov ne presežejo mejnih vrednosti, ki so določene s pravilniki o mejnih vrednostih kontaminantov v hrani in krmi. V nekaterih letih nam to uspe, večkrat pa so vsebnosti tako visoke, da žita niso več primerna niti za predelavo v živilski industriji, niti za krmo živalim.

Med običajna priporočila glede zdrave prehrane spada povečano uživanje z vlakninami bogatih izdelkov iz polnozrnate moke v kombinaciji z otrobi, kosmiči in müsliji. Veliko potrošnikov povprašuje po tovrstnih izdelkih, vendar si želijo tradicionalne izdelke, ki niso bili proizvedeni iz konvencionalnega žita v industrijskih postopkih mletja in peke.

Industrijski pekovski izdelki so obremenjeni z različnimi dodatki (konzervansi, belila, arome, barvila, vlažila, antioksidanti ipd.), kar ljudi odvrača od prepričanja, da so zdravju koristni. Takšno razmišljanje je priložnost za pridelovalce žit in za manjše neindustrijske pekarnice, da ponudijo izdelke pridobljene na tradicionalne načine in tako pridejo do dodatnega vira zaslužka. Industrijsko predelavo žit navadno spremljajo s številnimi analizami za dokazovanje mikrobiološke neoporečnosti in za zagotavljanje skladnosti s predpisi o varni hrani. Pri neindustrijskih postopkih priprave izdelkov iz žit na nivoju kmetij in na nivoju mini pekarn pa ni možno izvajati vseh aktivnosti za spremljanje skladnosti s predpisi o varni hrani (stroškovni vidik analiz). Postavlja se vprašanje, ali so potrošniki tradicionalnih prehranskih artiklov iz krušnih žit zaradi tega lahko izpostavljeni tveganjem, ki jih povzročajo fuzarijski mikotoksini. Posebej to velja za skupino potrošnikov, ki kupujejo pšenično zrnje in doma sami pripravljajo polnozrnat moko ter izdelke iz nje. Sistematičnih analiz tveganja za tovrstne potrošnike in tovrstne izdelke pri nas nimamo. Ker bomo tudi v bodoče še dodatno vzpodbujali tovrstne stranske aktivnosti na kmetijah, je potrebno udeležencem v tovrstnih neindustrijskih pridelovalno-predelovalnih verigah nuditi čim več informacij o načinih in postopkih zmanjševanja tveganj za pojav povečanih vsebnosti fuzarijskih mikotoksinov v izdelkih iz žit. Prav tako je pri pridelavi žit brez uporabe fungicidov potrebno opozoriti, da je potrebno pridelovalni sistem, izbor sort in postopke priprave do mletja prilagoditi pekovskim postopkom in vrsti končnih izdelkov, ki jih želimo ponuditi na trgu.

1.2 Cilji doktorske disertacije

Cilj in namen doktorskega dela je opraviti analizo uspešnosti (kritičnih točk) obvladovanja pojava trihotecenskih mikotoksinov v zrnju žit in v moki, proizvedeni na neindustrijski način, v razmerah slovenske integrirane pridelave žit ter pridelave brez uporabe fungicidov. Preko kritičnega pregleda in obdelave literaturnih podatkov in skozi izvedbo poskusov na poljih ter pri procesiranju žitnega zrnja želimo podati ocene o uspešnosti/neuspešnosti preprečevanja pojava povečanih vsebnosti trihotecenskih

mikotoksinov (deoksinivalenol – DON in nivalenol – NIV) v moki, proizvedeni iz zrnja brez uporabe fungicidov na neindustrijski način. Opozoriti želimo na dejavnike, ki lahko povzročijo povečano vsebnost trihotecenskih mikotoksinov v zrnju ob žetvi, na dejavnike, ki onemogočajo uspešno čiščenje zrnja pred postopki mletja, in na dejavnike, ki tekom predelave zrnja in skladiščenja moke vplivajo na vsebnost trihotecenskih mikotoksinov. Izdelati želimo navodila, kako naj pridelovalci zmanjšajo vsebnost mikotoksinov v zrnju ob žetvi in kako, naj preprečijo pojave povečane vsebnosti mikotoksinov v polnozrnatih moki, ki se pridobiva na tradicionalne načine pridelave zrnja. Zapolniti želimo znanje glede načinov in učinkovitosti obvladovanja tveganj, ki jih predstavljajo trihotecenski mikotoksini v okviru slovenske neindustrijske pridelave in predelave krušnih žit.

1.3 Delovne hipoteze

Postavili smo naslednje delovne hipoteze:

1. Predvidevamo, da vremenske razmere, lokacija, sorta pšenice, uporabljeni fungicidi za zatiranje gliv in pridelovalni sistem (pridelava brez uporabe fungicidov ali integrirana pridelava) značilno vplivajo na vsebnost deoksinivalenola in nivalenola v zrnju ob žetvi.
2. Predvidevamo, da se vsebnost DON in NIV v žitnem zrnju, ugotovljena takoj po žetvi, povečuje z manjšanjem velikosti in teže žitnih zrn, vendar je korelacija med obema parametroma pri integrirano pridelanem žitu drugačna kot pri žitu brez uporabe fungicidov.
3. Predvidevamo, da bo tesnost korelacijske povezave med vsebnostjo DON (NIV) v zrnju in obsegom zunanjih, vizualno opaznih znamenj okužb s fuzariozami različna pri različnih sortah pšenice in pri različnih načinih pridelave (brez uporabe fungicidov/integrirano).
4. Predvidevamo, da obstajajo takšne sorte pšenice tolerantne na fuzarioze, pri katerih ni tesne povezave med zunanjimi znamenji okužbe na zrnju in vsebnostjo trihotecenskih

mikotoksinov v njih. V takšnih primerih lahko tudi vizualno povsem zdrava zrna vsebujejo velike količine trihotecenskih mikotoksinov.

5. Predvidevamo, da je uspešnost postopkov čiščenja zrnja z uporabo klasičnih naprav za čiščenje odvisna od načina pridelave zrnja (brez uporabe fungicidov/integrirano) in tudi od sorte (neposredno od stopnje odpornosti oziroma tolerantnosti sort na okužbe s fuzariozami).
6. Predvidevamo, da je padec vsebnosti trihotecenskih mikotoksinov med peko kruha iz moke iz zrnja, pridelanega na integriran ali na način brez uporabe fungicidov, različen.
7. Predvidevamo, da mejna, še dovoljena vsebnost za vsebnost DON in NIV za moko (750 µg/kg), ki je navedena v uredbi (EC 1881/2006) za tradicionalne polnozrnaté moke, ni ustrezna, ker je padec vsebnosti DON in NIV med peko manjši kot pri industrijskih mokah, proizvedenih v postopkih klasičnega mletja.

2 PREGLED LITERATURE

2.1 Mikotoksini

Mikotoksini (iz grške besede $\mu\acute{\omicron}\kappa\eta\varsigma$ (mykes, mukos) kar pomeni "glive" in latinske besede (toxicum) kar pomeni "strup"), so sekundarni presnovki, ki jih tvorijo organizmi iz kraljestva gliv, med največje proizvajalke pa spadajo nekatere gobe, plesni in kvasovke (Richard 2007). Izraz "mikotoksin" je navadno rezerviran za razmeroma majhne molekule ($MM \approx 700$), naravnih toksičnih kemičnih snovi, ki nastanejo kot sekundarni metaboliti pri presnovi gliv in so lahko prisotni na pridelkih pred in po spravilu (Richard 2007). Od več tisoč poznanih mikotoksinov jih le peščica predstavlja resno težavo pri pridelavi hrane (Murphy s sod. 2006). Ena vrsta plesni lahko oblikuje veliko različnih mikotoksinov in/ali enake mikotoksine kot druge vrste (Robbins s sod. 2000).

Mikotoksine so prvič diagnosticirali po Turkey X-bolezni, ki je leta 1960 povzročila pogin približno 100.000 puranov in so jo pozneje povezali z aflatoksinom, prisotnim na arašidih, namenjenih za njihovo krmo (Wannop 1961, Blout 1961, cit. po Bennet in Klinch 2003). Že v preteklosti so se pojavljale različne bolezni in simptomi, ki so jih povzročali zaužiti mikotoksini, kot je bila bolezen srednjega veka, imenovana »St. Anthony's Fire« (ogenj sv. Antona), ki jo je povzročil mikotoksin (alkaloid) iz rženih rožičkov (ergotin), epidemija ergotizma v Šparti leta 430 pred Kristusom in številne druge epidemije ergotizma v Evropi (Haller 1993, cit. po Bennett in Klich 2003). Tudi v novejšem času kljub vsemu človeškemu znanju in tehnologiji prihaja do akutnih zastrupitev in smrti zaradi mikotoksinov, kot se je to zgodilo leta 2004 v Keniji, ko je zaradi uživanja z aflatoksinom iz okužene koruze umrlo 125 in se zastrupilo 250 ljudi (Lewis s sod. 2005).

Po eni teoriji glede desetih biblijskih kug bi naj skrivnostno smrt egipčanskih prvorojencev povzročili mikotoksini, ki so bili na zgornjih plasteh skladiščenega zrnja in so ga po tradiciji prvi zauživali prvorojenci (Schoental 1984).

Kadar so pogoji primerni, se glive razmnožujejo v kolonijah in ustvarijo visoko raven mikotoksinov. Mikotoksini se tvorijo kot sekundarni metaboliti, predvsem kot odgovor na konkurenco z drugimi mikroorganizmi v tekmovanju za življenjske vire ali kot snovi za onesposobitev obrambnih sistemov okuženih tkiv gostiteljev (Bennett in Klich 2003). Niso potrebni za rast in so običajno tvorjeni samo v določenem obdobju življenjskega cikla glivičnih organizmov. Nekatere glive tvorijo toksine samo na določenih nivojih vlage, temperature ali kisika v zraku. Toksini se zelo razlikujejo v svoji toksičnosti. Nekateri so smrtonosni strupi, nekateri so prepoznavni po povzročanju bolezni ali zdravstvenih težav, nekateri oslabijo imunski sistem, spet drugi delujejo kot alergeni ali dražilne snovi, in nekateri so znani, da nimajo škodljivih učinkov na zdravje ljudi. Mikotoksini imajo običajno več negativnih vplivov na populacije domačih živali kot na ljudi, predvsem zaradi slabše kakovosti izvornih surovin pri predelavi za krmo, namenjeno za njihovo prehrano. Nekateri so lahko škodljivi tudi za druge mikroorganizme, kot so glive ali celo bakterije, npr. penicilin (Bennett in Klich 2003).

Mikotoksini se lahko pojavijo v prehrambeni verigi kot posledica glivičnih okužb pridelkov, bodisi pri neposrednem uživanju s strani ljudi ali pa se uporabljajo kot krma za živali in so nato prisotni v živalskih produktih. Nekateri mikotoksini so relativno močno odporni na razgradnjo pri prebavi (npr. aflatoksin), tako da ostanejo v prehrambeni verigi v mesnih in mlečnih izdelkih. Tudi termična obdelava prehranskih izdelkov (substratov), kot je kuhanje in zamrzovanje, v večini primerov popolnoma ne razgradi mikotoksinov (Hazel in Patel 2004).

Mikotoksine delimo po molekularni strukturi na aflatoksine, amatoksine, citrinine, citochalasin, fumonizine, gliotoksine, ibotenične kisline, muscimol, ohratoksine, patuline, sterigmatocistine, trihotecene, zearanole, ergote in zearalenone (Bennett in Klich 2003, D'Mello in Macdonald 1997).

Naravna glivična flora, povezana s pridelavo hrane sestoji v večini iz rodov *Aspergillus*, *Fusarium* in *Penicillium* (Murphy s sod. 2006) in glive iz teh rodov so glavne tvorke

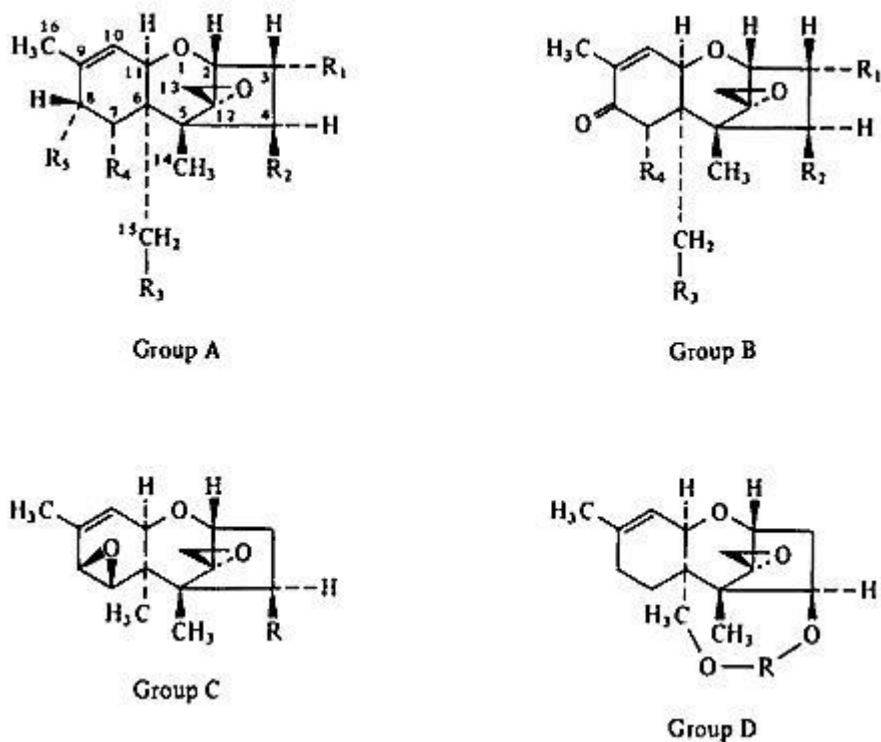
mikotoksinov. Pojavljajo se lahko na vseh kulturnih rastlinah po celem svetu, če so zadoščeni kriteriji glede potrebne minimalne vlage in temperature.

2.2 Trihoteceni

Danes trdimo, da obstaja približno 180 trihotecenskih toksinov, ki jih izločajo glive iz rodov *Fusarium*, *Trichoderma*, *Trichothecium*, *Cephalosporium*, *Verticimonosporium* in *Stachybotrys*, vendar jih je za človeka nevarnih samo nekaj (Murphy s sod. 2006). Ime so dobili po prvem identificiranem toksinu iz te skupine, imenovanem trihotecin. Trihotecene delimo na tip A (T-2-toksin, HT-2-toksin) ter tip B, C in D. V tip B spadajo deoksinivalenol (DON), ki je tudi najpomembnejši v smislu nevarnosti za človeka, 3- in 15-acetildeoksinivalenol, nivalenol (NIV) in drugi.

Vsi trihoteceni imajo skupen 12-, 13-epoksitrihotecenski skelet in olefinsko vez z različnimi stranskimi verižnimi substituti (Bennett in Klich 2003), kot je razvidno na sliki 1. So zelo močni inhibitorji evkariotične sinteze proteinov, različni toksini motijo začetne, trajajoče in terminalne stopnje tega procesa (Bennett in Klich 2003).

Trihoteceni nosijo substituentne, ki vsebujejo kisik, na eni ali večih pozicijah; C₃, C₄, C₇, C₈ in C₁₅. Ti substituenti so lahko hidroksili, esterificirani hidroksili, keto verige (pozicija C₈) ali epoksi verige (pozicija C₇,C₈) ali njihove kombinacije. Verukarin in roridin (tip D) spadata v posebno skupino, ki jo določa makrociklični ester ali ester-eterski most med pozicijama C₄ in C₁₅ (Committee 1983).



Slika 1: Trihoteceni (Committee 1983)

Picture 1: Trichothecenes (Committe 1983)

Trihotecene lahko razdelimo v naslednje skupine (Ueno 1980):

Skupina A-trihoteceni

- trihotecen (scirpenol)
- trihodermol (roridin C)
- dihidrotrihotecen
- scirpen-4,8-diol
- verrucarol
- scirpentriol
- T-2-tetraol
- pentahidroksiscirpen

Skupina B-trihoteceni

- trihotekolon
- trihotecin
- deoksinivalenol (DON)
- 3-acetildeoksinivalenol
- 5-acetildeoksinivalenol
- 3-, 15-diacetildeoksinivalenol
- nivalenol
- 4-acetilnivalenol (fusarenon X)

4-deacetylneosolaniol	4-, 15-diacetilnivalenol
trihodermin	4-, 7-, 15-triacetilnivalenol
deacetylcalonektrin	tetracetilnivalenol
calonektrin	
diacetylverrucarol	Skupina D-trihoteceni
4-monoacetoksiscirpenol	
4-, 15-diacetoksiscirpenol (DAS)	verrucarin A
7-hidroksidiacetoksiscirpenol	verrucarin B
8-hidroksidiacetoksiscirpenol	verrucarin J
(neosolaniol)	2-dehidroverrucarin A
7-, 8-dihidroksidiacetoksiscirpenol	roridin A
7-hidroksi-8-acetildiacetoksiscirpenol	roridin D
8-acetylneosolaniol (8-acetil – DAS)	roridin E
NT-1	roridin H
NT-2	satratoksin C
HT-2-toksin	satratoksin D
T-2-toksin	satratoksin F
acetyl T-2-toksin	satratoksin G
	satratoksin H
Skupina C-trihoteceni	vertisporin
crotochol	
crotochin	

Simptomi zastrupitev, ki jih povzročajo različni trihoteceni, vključujejo učinke na skoraj vse glavne sisteme v telesu sesalcev, večina teh procesov je zaradi sekundarnih vzrokov povezanih z napakami v sintezi proteinov (Bennett in Klich 2003). Od naravno prisotnih trihotecenov sta najbolj toksična toksina T-2 in diacetoksiscirpenol, medtem ko je najbolj pogost trihotecen DON, ki je klasificiran kot manj nevaren toksin.

DON se pojavlja predvsem na pšenici, rži, ječmenu, ovsu, koruzi, redkeje pa na rižu, sirku in tritikali. Pojav DON toksina na teh rastlinah lahko povežemo z glivami iz rodu *Fusarium*, med temi pa sta *Fusarium graminearum* Schwabe ter *Fusarium culmorum* (W. G. Sm.) Sacc., največji tvorci tega mikotoksina. *F. culmorum* uspeva bolj v krajih z zmerno klimo, medtem ko *F. graminearum* ugajajo bolj topli in vlažni kraji. Bila je potrjena interakcija med geografsko razširjenostjo fuzarioze klasa, povzročeno od gliv *F. gramineum* in *F. culmorum*, ter pojavom deoksinivalenola v moki posameznih regij (Beyer s sod. 2006).

Študije na akutni toksičnosti deoksinivalenola pri živalih so pokazale, da lahko povzroča vnetje kože, zavračanje hrane, bruhanje, drisko, krvavitve, splave ter celo smrti (Rotter s sod. 1996). Glede toksičnosti za ljudi avtorji ocenjujejo, da ni kancerogen kot npr. aflatoksin, vendar dolgotrajna izpostavljenost vseeno povzroča različne bolezni ter mogoče tudi raka, je pa ugotovljena imunotoksičnost. Obenem pa ugotavljajo, da je bilo v smeri toksičnosti za ljudi narejenih premalo raziskav (Murphy s sod. 2006).

2.2.1 Deoksinivalenol (DON) in žita

Primarne fuzarijske okužbe so zelo povezane z vremenom in tako lahko deževje med cvetenjem ter dozorevanjem žit povzroči množično okužbo s fuzariozami. Nasprotno pa visoke temperature v tem času (npr. suša) lahko signifikantno zmanjšajo okužbe. Tako je vreme najpomembnejši dejavnik, ki določa okužbe s fuzariozami (Schaafsma s sod. 2001, Jouany 2007). Najpomembnejši okuževalki žit sta glivi *F. graminearum* ter *F. culmorum*, sledijo pa *F. avenaceum* (Fr.) Sacc., *Monographella nivalis* var. *nivalis* (Schaffnit) E. Müll. (sinonimi *Fusarium nivale*, *Microdochium nivale* itd.) ter *F. poae* (Peck) Wollenw. Povezave med naselitvijo rastlinskih tkiv z njimi in vsebnostjo trihotenocenskih mikotoksinov (npr. DON) so bile potrjene (Beyer s sod. 2006). Katera gliva bo dominirala v določeni sezoni, je odvisno od temperature. Tako v toplejših regijah prevladuje *F. graminearum*, v hladnejših pogojih pa ostale (Brennan s sod. 2003, Doohan s sod. 2003).

2.3 Ostali pomembnejši mikotoksini

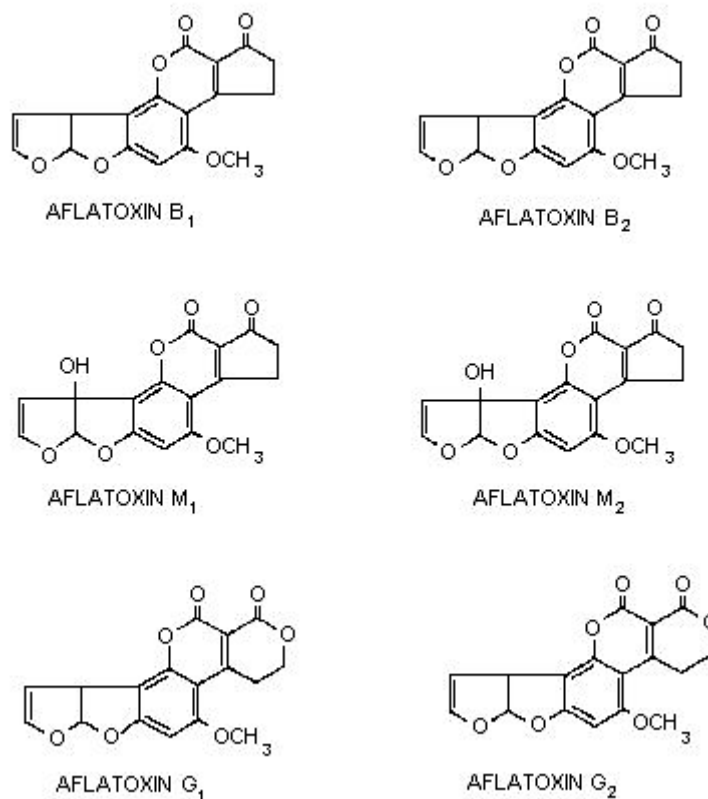
2.3.1 Aflatoksini

Aflatoksini so med najbolj raziskanimi toksini. Njihove raziskave segajo vse od Turkey X-bolezni v 60-ih letih prejšnjega stoletja pa vse do danes. *Aspergillus flavus* Link je dominantna gliva tega razreda toksinov, ki tvori AFB₁- in AFB₂-toksine, nikakor pa ne gre zanemarjati *Aspergillus parasiticus* Speare, ki lahko tvori vse štiri znane toksine, AFB₁, AFG₁, AFB₂ in AFG₂. Ostali znani proizvajalci aflatoksinov so še *A. nomius* Kurtzman, B. W. Horn & Hesselt., *A. bombycis* S. W. Peterson, Yoko Ito, B. W. Horn & T. Goto, *A. pseudotamarii* Yoko Ito, S. W. Peterson, Wicklow & T. Goto, *A. ochraceoroseus* Bartoli & Maggi, *Emericella venezuelensis* Frisvad & Samson in druge (Frisvad s sod. 2005). Med vsemi je AFB₁ zdaleč najbolj kancerogen in najbolj razširjen aflatoksin ter je posledično tudi večina raziskav usmerjena na njega (Steyn 1995). Aflatoksini so izredno substitilni kumarini, danes poznamo 18 sorodnih toksinov, npr. AFM₁ je hidroksilirani AFB₁ in je med najpogostejšimi toksini v mleku, urinu in iztrebkih kot metabolični produkt (Enomoto in Saito 1972). Toksičnost aflatoksinov sicer pada po tem vrstnem redu B₁ > M₁ > G₁ > B₂ > M₂ ≠ G₂ (Ayres s sod. 1980).

Padavine med ali pred žetvijo lahko vodijo v prekomerne vsebnosti aflatoksinov pri večini pridelkov v toplejših regijah. Indirektne povezave med višjimi dnevnimi temperaturami v aridnih, semiaridnih in sušnih pogojih v tropskih krajih in aflatoksikozami so dokazane (Lewis s sod. 2005). Rastline so v začetnih rastnih obdobjih razmeroma odporne na okužbe z glivami *A. flavus*, vendar pa povečane temperature in suše povzročajo stres pri rastlinah, pri nekaterih plodovih (npr. pistacijah) povzročajo pokanje ali predčasno odpiranje ali lupljenje plodov, kar se odraža z lažjimi primarnimi okužbami z *A. flavus*. Tako je klima neposredno povezana z okužbami. Posredna povezava pa je povezana s poškodbami od žuželk, sesalcev, ptic in mehničnimi poškodbami (npr. toča), ki se pojavljajo močneje pri višjih dnevnih temperaturah. Padavine pred ali med žetvijo povzročijo množično rast glive *A. flavus*, ki nato posledično v stresnih pogojih ob pomanjkanju vlage (žetev, skladiščenje)

in konkurenci med seboj ali drugimi glivami oblikuje velike količine aflatoksinov (Lewis s sod. 2005).

A. flavus ima relativno majhno tekmovalno sposobnost z ostalimi glivami v krajih s povprečnimi temperaturami okoli 20 °C, medtem ko se ta v krajih s povprečno temperaturo nad 25 °C hitro povečuje. Spore gliv *A. flavus* med sezonami hibernirajo v organski masi tal, zato mile oziroma tople zime omogočijo njihovo popolno prezimitev. Iz tega razloga so tropska, aridna, semiaridna ter topla območja primarni kraji za okužbe z aflatoksini. S spremembami klime lahko tako verjetno pričakujemo širjenje *A. flavus* v regije, kjer so trenutno zmerni klimatski pogoji (npr. Srednja Evropa, S Evropa). V teh regijah trenutno ni bilo večjih težav z aflatoksikozami, razen v posameznih letih (Lewis s sod. 2005). Pričakovano širjenje bo tako verjetno zmanjšalo območja, primerna za pridelavo »aflatoksikološko« varne hrane, kar bo še poslabšalo ekonomski in prehrambeni status, predvsem držav v razvoju. V teh državah lahko pričakujemo povečano stopnjo zastrupitev ljudi na račun slabše detoksifikacije, kot se je npr. zgodilo v Keniji leta 2005 (Lewis s sod. 2005). V prihodnje so potrebni bolj zanesljivi pristopi za zmanjšanje izpostavljenosti prebivalstva prevelikim količinam aflatoksinov. Nove tehnologije preprečevanja okužb, detoksifikacije ter posodobitev sortimenta rastlin so prav tako zaželeni (Magan s sod. 2003). Predvidevanja, kako bodo klimatske razmere vplivale na aflatoksikoze, so po oceni Russella s sodelavci (2010) med najbolj zanesljivimi.



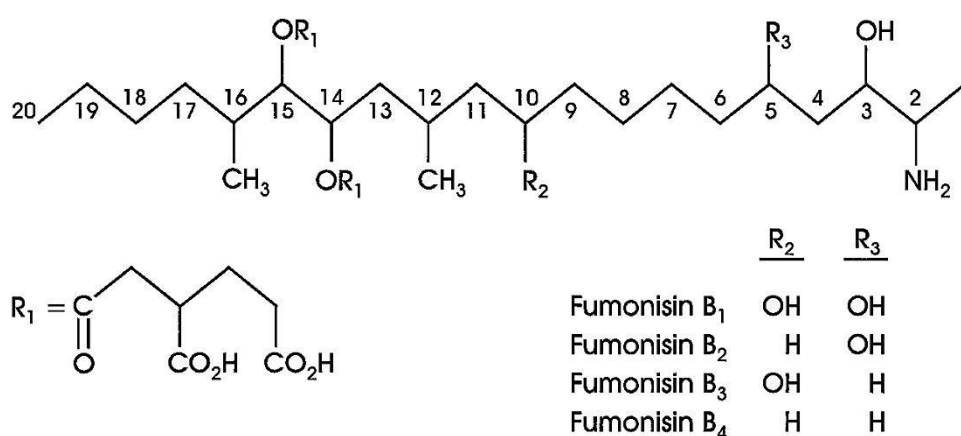
Slika 3: Aflatoksini (Food 1999)

Picture 3: Aflatoxins (Food 1999)

2.3.2 Fumonizini

Fumonizini so še ena vrsta mikotoksinov, ki jih povzročajo glive iz rodu *Fusarium*, kot so *Fusarium moniliforme* J. Sheld, *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg, *Fusarium proliferatum* (Matsush.) Nirenberg in druge (Munkvold in Desjardins 1997). Odkrili so jih leta 1988 in označili kot rakotvorne mikotoksine (Gelderblom s sod. 1988). Najbolj relevantne oblike toksina so FB₁, FB₂ in FB₃. Koruza je najpomembnejša rastlina, na kateri se pojavljajo, vremenski pogoji ter poškodbe rastlin pa odigrajo veliko vlogo pri okužbah. Okužbe se lahko pojavljajo po celotni zemeljski obli, kjer se prideluje koruza (Munkvold in Desjardins 1997). Tako suho, vroče vreme, ki mu sledijo padavine v času metličenja,

omogočajo idealne pogoje za okužbo z glivami. Poškodbe zaradi insektov, sesalcev ali vremensko povzročene poškodbe precej povečajo stopnjo okužbe, ker omogočajo lažje primarne okužbe gliv. Tako Russell s sodelavci (2010) citira rezultate raziskave, ki sta jo objavila Schaafsma in Hooker (2007) in v kateri so pokazali, da največji vpliv na stopnjo »okužbe« z fumonizini predstavljalo vreme (47 %), poškodbe od insektov (17 %), hibrid (14 %) ter Bt-hibrid (11 %).



Slika 4: Fuminizini (Munkvold in Desjardins 1997)

Picture 4: Fumonisin (Munkvold and Desjardins 1997)

V članku Munkvold in Desjardins (1997) se pojavljajo nekateri zanimivi izsledki iz sorodnih raziskav, ki namigujejo, da gliva lahko živi v simbiotskem (endofitičnem odnosu) z rastlino. Tako je gliva *F. moniliforme*, ki je zdaleč najpogostejša okuževalka koruze, tudi najpogostejša gliva na koruzi brez vidnih simptomov okužbe in se jo zato večinoma spregleda. Okužba brez simptomov lahko obstaja po celotni rastlini in sporotvorni sevi se lahko sistematično razvijejo in okužujejo zrnje. Munkvold in Desjardins (1997) pravita takšnemu razvoju glive endofitičen simbiotski razvoj. Avtorja raziskave se sprašujeta, če ima taka simbioza med glivo in rastlino kake večje pozitivne učinke kljub zmanjšanju kvalitete zrnja, in zaključujeta, da glede na zbrane podatke lahko gliva pospešuje rast

koruze z izločanjem rastnih hormonov, mogoče zmanjšuje okužbe z *A. flavus* in tvorbo aflatoksinov ter lahko zmanjšuje okužbe z *F. graminearum*.

Čeprav je večji del sistemsko okužene rastline brez vidnih simptomov, pa se lahko tudi ti dobro pokažejo na steblih in storžih. V takih primerih sta žetev v primerni vlažnosti zrnja ter pravilna nastavitve kombajna odločilni za zmanjšanje vsebnosti toksina v zrnju (zmanjševanje morebitnih poškodb zrnja) (Bruns 2003). Problemi se pojavljajo predvsem tam, kjer so rastline okužene in ne kažejo vidnih znamenj okužb (Munkvold in Desjardins 1997).

Čeprav so toksine odkrili pred relativno kratkim časom, učinke plesnive koruze, okužene z glivo *F. moniliforme*, poznamo že dolgo časa. Najbolj znana bolezen je konjska leukoencefalomalacia ali »ELEM«, smrtonosna bolezen možganov, ki se pojavlja predvsem pri konjih, oslih, mulah in zajcih. Druga pomembna bolezen je PPE (»porcine pulmonary edema« ali prašičji pljučni edem), ki se odraža predvsem na pljučih prašičev (Munkvold in Desjardins 1997). Glede nevarnosti za ljudi se pojavljajo različni rezultati raziskav, ki so si medsebojno nasprotujoči. Tako je vprašljiva njegova kancerogenost in citotoksičnost, njegova meja pri ljudeh je 2 µg/kg žive teže za vsakega posamično ali pa za kombinacijo toksinov (Scientific Committee on Food 2003). Najbolj pogosta akutna znamenja zastrupitve s toksinom so abdominalne bolečine in prebavne motnje.

Klimatske spremembe bodo verjetno povzročile spremembe v razširjenosti fumonizinov v posameznih letih. Glive imajo široko optimalno temperaturno območje za tvorbo fumonizinov (15–30 °C), tako dvigovanje temperature ne bo povzročilo povečanja njihovega tvorjenja oziroma migracije gliv v severnejša območja. V krajih, ki omogočajo pridelovanje koruze, lahko ob ugodnih vremenskih pogojih pričakujemo tudi fumonizine. Nasprotno pa lahko s spremembo količine padavin ter razporeditve letnih pridelovanj koruze postane v nekaterih regijah oteženo, zato se posledično fumonizini tam ne bodo pojavljali. Tudi visoke dnevne temperature (nad 30 °C) med metličenjem lahko zmanjšujejo primarne okužbe, po drugi strani pa visoke nočne temperature ugodno vplivajo na insekte in prehranjevanje v naravi prisotnih sesalcev, tako lahko pričakujemo

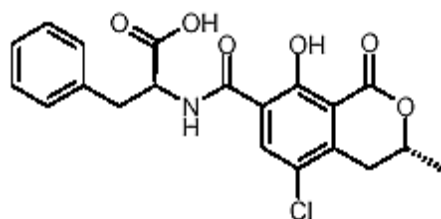
več poškodb na rastlinah in tako lažji vstop gliv. Tudi vremenski pojavi, kot so toča, naj bi v prihodnje postali stalnica in pridobivali na pomenu, tako da tudi tega vidika ne gre zanemarjati. Največje spremembe v pridelovanju koruze v Evropi se obetajo v mediteranskem območju, kjer bo lahko predvidevano zvišanje temperatur za 4–5 °C ter zmanjšanje padavin za 25–30 % (Giorgi in Lionello 2008) praktično zelo zmanjšalo obseg pridelovanja koruze, nasprotno pa bo mogoče pričakovati širjenje pridelave v nekatere severnejše regije, kjer do sedaj ta ni bila tako razširjena.

2.3.3 Ohratoksin

So še ena velika skupina mikotoksinov, ki so odvisni od temperature in vlage v določenih regijah. Najpogosteje jih tvorita glivi *Aspergillus ochraceus* G. Wilh. in *Penicillium verrucosum* Dierckx, ki v glavnem okužujeta grozdje, kavna zrnca, oreščke, fige ter žitna in koruzna zrna (Al-Anat in Petzinger 2006, Pohland s sod. 1992). V Evropi se pojavljajo v vseh toplejših krajih, ki omogočajo pridelovanje vinske trte in žit. Daleč najbolj prevalentni iz te skupine je Ohratoksin A, omembe vredna pa sta še Ohratoksin B in Ohratoksin C (Al-Anat in Petzinger 2006).

Gre za toksine, ki so ob kronični izpostavljenosti tumorogeni, kancerogeni, nefrotoksični, mutageni, imunotoksični ter imajo celoten spekter negativnih učinkov ob akutnih zastrupitvah. Povzročajo reproduktivne težave in lahko ovirajo sintezo proteinov (Pohland s sod. 1992). Lahko se akumulirajo v živalskih tkivih in izdelkih iz njih ter tako posredno prehajajo v prehrambeno verigo ljudi. Tako so prisotni v mediteranskem delu oziroma na Balkanu, kjer jih nekateri raziskovalci povezujejo z balkansko endemično nefropatijo (Castegnaro s sod. 2006). Toplejše tropske regije ugajajo glivi *A. ochraceus*, medtem ko v hladnejših območjih prevladuje vrsta *P. verrucosum*. Obe vrsti gliv pa lahko tvorita kancerogeni ohratoksin A. Tako je raziskava Clouvela s sodelavci (2008) pokazala, da je bila v Franciji spodnja meja za tvorbo kritičnih stopenj toksina pri 21 °C. Tudi druge raziskave potrjuje, da je temperatura v povezavi z vlažnostjo najpomembnejši dejavnik za

tvorbo ohratoksina. V raziskavi Bellija s sodelavci (2005) so dokazali, da se pri temperaturah nad 30 °C in 100-odstotni zračni vlažnosti, tvori signifikantno več toksina kot pri 20 °C. Nasprotno pa je Tassou s sodelavci (2007) v svojih raziskavah ugotovil, da je bila sicer optimalna rast gliv pri 30–35 °C in 0,96_{a_w}, vendar pa je bila največja stopnja tvorbe ohratoksina pri 15–20 °C in 0,93–0,96_{a_w}, skratka v neoptimalnih pogojih. Prevladujoča gliva je bila *A. carbonarius* (Bainier) Thom in je takoj vzbudila zanimanje pri znanstvenikih zaradi svoje velike potencialne sposobnosti prilagoditve različnim okoljskim razmeram. Tudi te glive lahko v neugodnih pogojih odreagirajo s povečano tvorbo ohratoksina A (Tassou s sod. 2007).



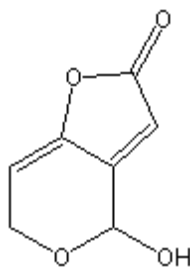
Slika 5: Ohratoksin A (Fermentek 2009)

Picture 5: Ochratoxin A (Fermentek 2009)

Pojavi naraščanja temperature v določenih krajih bodo tako v največji meri verjetno ugodno vplivali na rast in primarne okužbe gliv, ki tvorijo ohratoksin. Tudi verjetna večja aktivnost škodljivih insektov in vremena bosta pozitivno vplivali na okužbe. Tako lahko pričakujemo povečanje stopnje mikotoksinov v rastlinah oziroma povečanje okuženih rastlin na določenem območju. Glive, ki tvorijo te toksine, imajo velik temperaturni razpon, in sicer od 10–37 °C, in tako bodo verjetne klimatske spremembe povzročile le zmanjšanje populacije določene glive v neki regiji, ki jo bo takoj nadomestila druga gliva, ki prav tako lahko oblikuje ohratoksina A (Russel s sod. 2010).

2.3.4 Patulin

Gre za nevaren mikotoksin, ki ga tvori več vrst plesni iz rodov *Penicillium*, *Aspergillus* in *Byssoschlamys*, v večini pa glive *Penicillium expansum* Link (Hopmans 1997). Prvič so ga izolirali v 40-ih letih prejšnjega stoletja, danes pa se pojavlja po celotnem svetu na sadju v sadnih sokovih. Te plesni so pogoste skladiščne okuževalke jabolk, hrušk in grozdja ter posledično vzrok za pojav patulina v sokovih. Patulin je odporen na toploto ter prestane predelovalne procese, kot tak je odličen pokazatelj kakovosti uporabljenega sadja za predelavo v sokove (Hopmans 1997). Na začetku so ga raziskovali celo kot antibiotik (ima nekatere značilnosti antibiotikov), vendar so različne študije dokazale, da je kljub temu, da je blago strupen, lahko v določenih koncentracijah genotoksičen, medtem ko kancerogenosti niso dokazali (Hopmans 1997).



Slika 6: Patulin (Fungal 2004)

Picture 6: Patulin (Fungal 2004)

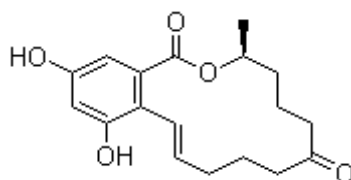
2.3.5 Zearalenon

Je nesteroidni estrogeni mikotoksin, sintetiziran preko poliketidne poti v glivah iz rodu *Fusarium*, kot so *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. cerealis* (Cooke) Sacc., *F. equiseti* (Corda) Sacc., *F. crookwellense* L. W. Burgess, P. E. Nelson & Toussoun in *F. semitectum* Berk. & Ravenel, ki so večinoma prisotne v tleh v krajih z zmernejšo in toplejšo klimo in so okuževalke žit po celotni zemeljski obli (Hagler s sod. 2001, cit. po Bennet in Klinch 2003). V preteklosti je bil poimenovan kot F-2-toksin (Zinedine s sod. 2007). Biotransformacija v prebavilih rezultira z nastankom dveh presnovnih produktov, α -zearalenola in β -zearalenola (Zinedine s sod. 2007). V literaturi zaznamo, da je lahko

beseda toksin pri zearalenonu vprašljivo uporabljena, ker ima zelo majhno toksičnost in bolj spominja na 17 β -estradiol, glavni hormon ženskih jajčnikov (Kuiper-Goodman s sod. 1987, cit. po Bennet in Klinch 2003), tako da avtorja članka predlagata uporabo imena mikoestrogen (Bennet in Klinch 2003). Zearalenon (ZEN) v večini nastaja na okuženi koruzi in v nekoliko manjšem obsegu na pšenici, ječmenu, ovsu, sirku, prosu, rži in rižu, bil pa je zaznan tudi v proizvodih, kot so moka, ječmenov slad, v pivu in sojinah tropinah (Zinedine s sod. 2007). Čeprav je vrhunec tvorbe »toksina« pred spravilom pridelka lahko v primeru mokrega spravila in napačnega skladiščenja nastajal tudi potem (Zinedine s sod. 2007).

Čeprav zearalenon in njegovi derivati kažejo veliko biološko toksičnost, je dejanska toksičnost zelo majhna. Različni poskusi so dokazali, da oralna LD₅₀ znaša tako pri samicah podgan več kot 10.000 mg/kg žive teže in pri samicah morskih prašičkov več kot 5000 mg/kg, vendar pa lahko že 1 μ g/kg povzroči zaznavno reakcijo maternice pri svinjah (Hidy s sod. 1977, cit. po Bennet in Klinch 2003). Kljub oceni o nizki toksičnosti pa toksin lahko povzroča različne učinke na zdravje živali, kot so reprodukcijske motnje, hipoestrogene simptome, slabosti, bruhanje in driske in ga označujemo kot hepatotoksičen, hematotoksičen, citotoksičen in imunotoksičen toksin (Zinedine s sod. 2007).

V poskusih so dokazali, da ZEN lahko zmanjšuje stopnjo preživetja zarodka, težo fetusa, pri prašičih povzroča feminizacijo z zavrtjem delovanja testosterona, zmanjšuje spermatogeneze in zavira libido. ZEN ima tudi izredno sposobnost vezave na estrogene receptorje (Zinedine s sod. 2007), kar povzroči hormonske motnje.



Slika 7: Zearalenon (Chemblink 2010)

Picture 7: Zearalenone (Chemblink 2010)

Ekstruzija in uporaba prehransko inertnih sorbentov sta pokazala signifikantno stopnjo redukcije ZEN in sta tudi praktično uporabna načina detoksifikacije (Zinedine s sod. 2007).

Čeprav je ZEN prisoten praktično v velikem številu živil, predstavlja realno nevarnost za človeka in živali šele ob zaužitju velikih vsebnosti ali ob dolgotrajni kronični izpostavljenosti toksinu (Zinedine s sod. 2007). Njegovih učinkov na reprodukcijsko sposobnost in feminizacijo moških osebkov ne smemo zanemarjati.

2.3.6 Ergot alkaloidi (ergotamini)

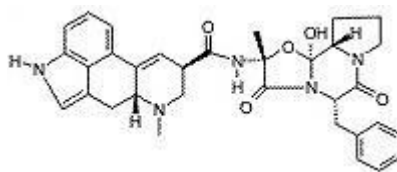
Gre za skupino zelo specifičnih mikotoksinov. Oblikujejo jih glive iz rodu *Claviceps*, najpogosteje vrsta *C. purpurea* (Fr.) Tul. (rženi rožiček), in jih razvrščamo med indolne alkaloidne (Bennet in Klinch 2003). Skupna značilnost vseh teh alkaloidov je liserična kislina.

Rožički se lahko pojavljajo na vseh travah in žitih in vsebujejo ergotamine, ki so med najstarejšimi znanimi toksini z učinkom na zdravje ljudi. Gliva okužuje rastline med cvetenjem in med svojim razvojem zmanjšuje kvaliteto zrnja, tvori sklerocije (rožičke), ki vsebujejo mešanice različnih alkaloidov, kot so ergometrini, ergotamini, ergosini, ergokristini, ergokriptini in ergocornini. Zastrupitve s temi spojinami imenujemo ergotizmi ali bolezen »St. Antonys fire« (ogelj sv. Antona) in se lahko kažejo v gangreniozni obliki, ki prizadene okončine, ter v epileptični obliki, ki vpliva na centralni živčni sistem. Zapise, ki spominjajo na simptome ergotizma, lahko najdemo že v letu 600 pred našim štetjem (Hofmann 1972, cit. po Bennet in Klinch 2003).

V zgodovini je bil ergotizem pri ljudeh zmeraj prisoten v Evropi, danes pa je z uporabo sodobnih metod čiščenja in sortiranja zrnja skoraj izkoreninjen. Po drugi strani pa je pri živalih še kako prisoten (Bennet in Klinch 2003). Znamenja se pojavljajo predvsem pri

govedu, prašičih, ovcah ter kokoših in se kažejo kot gangrena okončin, abortusi, epilepsije, zmanjšane laktacije, hipersenzibilnost na svetlobo ter ataksije.

Ergotamini imajo zelo zabrisano mejo med toksinom ter drogami in lahko delujejo tudi na dopaminske receptorje, telesno koncentracijo noradrenalina ter serotonina. Tako je bila droga LSD odkrita pri preučevanju ergotalkaloidov. Pod določenimi pogoji bi se lahko uporabljali kot zdravila za migrene, parkinsonovo bolezen in podobno (Bennet in Klinch 2003).



Slika 8: Ergotamin (Romer 2012)

Picture 8: Ergotamine (Romer 2012)

2.4 Ukrepi za zmanjšanje primarnih kontaminacij z deoksinivalenolom (DON)

Ukrepi se posredno in neposredno dotikajo ukrepov pred in med setvijo, tehnik in učinkov čiščenja, mletja, brušenja in termične obdelave zrnja pšenice in moke ter njihov vpliv na vsebnost trihotecenskih mikotoksinov, predvsem učinek na deoksinivalenol (DON) ter raznih drugih postopkov, ki so po našem mnenju pomembni za splošno razumevanje problematike.

Pogosto nam z običajnimi pridelovalnimi tehnologijami ne uspe dovolj temeljito preprečiti razvoja gliv, odgovornih za nastanek mikotoksinov. Osnovne strategije preprečevanja okužb z mikotoksini pri pridelovanju temeljijo na ukrepih (izbira odpornih sort, obdelava tal, kolobarju, škropilni program itd.), skladiščenju in obdelavi zrnja (vlaga in temperatura skladiščenja, čiščenje zrnja, mletje zrnja ipd.) in končni pripravi pekovskih in drugih izdelkov.

V Evropi sta najpogostejša mikotoksina DON ter ZEN, ki ju najpogosteje tvorita glivi *F. graminearum* v toplejših delih Evrope in *F. culmorum* v hladnejših (Bottalico in Perone 2002). V zrnju pšenice so med najpogostejšimi toksini DON, NIV ter ZEN.

Preprečevanje okužb na njivi je cenovno najučinkovitejša metoda in sestoji iz ukrepov, kot so razkuževanje semena, kolobarjenje, obdelava tal, čas setve, kemično ter biotično varstvo rastlin, odpornost rastlin in podobno. Vse te tehnike lahko učinkovito zmanjšujejo stopnjo okužb, vendar v letih, ugodnih za razvoj glivičnih patogenov nobena metoda ne more popolnoma preprečiti okužb (Jouany 2007). Postopki za zmanjševanje vsebnosti mikotoksinov so združeni iz ukrepov pred okužbo z glivičnimi patogeni, med okužbo ter iz ukrepov po spravilu in predelavi (Jouany 2007).

2.4.1 Kolobarni sistem

Kolobarjenje je poznano že več tisoč let kot učinkovita metoda preprečevanja raznih bolezni in prevelikega razmaha škodljivcev. Ker večina gliv povzročiteljic mikotoksinov (posebej *Fusarium* spp.) prezimijo na rastlinskih ostankih, je lahko kolobarjenje priporočljiv ukrep pri zmanjševanju možnosti okužbe z obravnavanimi glivami (Jouany 2007, Sutton 1982). Tako lahko monokulturno pridelovanje koruze obogati zemljo z askosporami glive *F. graminearum*. Vendar se glede učinkovitosti kolobarjenja pojavljajo različni, nasprotujoči si rezultati. Tako je Schaafsma s sodelavci (2001) dokazal, da vključitev rastline, ki ni pšenica, v obdobju dveh let pred setvijo pšenice signifikantno zmanjša okužbo. Pri okužbi pšenice so odkrili, da so predhodni ostanki koruznice lahko pomemben dejavnik, ki vpliva na okužbo (Dill-Macky in Jones 2000, Munkvold 2003), vendar pa kot nasprotje tem raziskavam Obst s sodelavci (1997) trdi, da ni razlike v verjetnosti okužbe, če pšenica sledi žitom ali pa rastlinam, ki ne spadajo v skupino žit. Fernandez s sodelavci (2001) je odkril, da je pšenica v monokulturi imela manjšo stopnjo okužbe kot tista, sejana v kolobarju. Tako na podlagi različnih rezultatov ne moremo absolutno trditi, da s kolobarjenjem prispevamo k zmanjšanju pojavnosti mikotoksinov.

Kot kontrast tem raziskavam pa različne raziskave trdijo, da lahko večji delež razlik v večji vsebnosti mikotoksinov pri konvencionalni pridelavi v primerjavi z ekološko pripišemo prav pomanjkljivemu kolobarjenju ali celo odsotnosti kolobarjenja v večjih konvencionalnih pridelovalnih sistemih (Bernhoft s sod. 2012, Bernhoft s sod. 2010, Köpke s sod. 2007). V prihodnje bo potrebno izvajati nadaljnje raziskave glede vpliva kolobarjenja na mikotoksine, prav tako lahko pričakujemo vključitev nekaterih novih rastlin v kolobar, predvsem rastlin, namenjenih za biogoriva. Trenutno še ni poznan dolgotrajnejši učinek podnebnih sprememb na kmetijstvo, vendar zgodnji znaki kažejo, da bodo vplivali na kmetijstvo v določenih regijah, predvsem s skrajšanjem ali podaljšanjem rastne sezone ter s sušami ali pretiranimi padavinami v določenih obdobjih. Temu bo verjetno sledilo tudi prilagajanje kolobarnega sistema v kmetijstvu (Tubiello s sod. 2000). Kolobarjenje v povezavi z različnimi pridelovalnimi načini obravnavamo tudi v poglavju 2.10.1.

2.4.2 Obdelava tal

Danes se uporablja vse več načinov obdelave tal, ki ne vključujejo oranja oziroma izvajamo samo minimalno obdelavo tal do globine 10 centimetrov. Sicer so ti načini obdelave ekonomsko in časovno upravičeni, po drugi strani pa raziskave kažejo, da takšna obdelava lahko povečuje vsebnost mikotoksinov v žitnem zrnju. Tako je Obst s sodelavci (1997) odkril, da je minimalna obdelava tal povečala vsebnost DON v pšenici za 10-krat v primerjavi z oranjem, Steinkellner in Langer (2004) pa sta ugotovila, da globlja kot je bila obdelava, manjša je bila poznejša okužba. Dill-Macky in Jones (2000) sta dokazala, da minimalna obdelava ostankov pšenice ali koruze signifikantno poveča vsebnost DON v posevkih, ki sledijo, z izjemo soje. Prav tako sta Schmidt in Nitzsche (2004) dokazala, da minimalna obdelava signifikantno poveča »okužbo« z mikotoksini v zrnih pšenice. Za setev žit za koruzo na podlagi zbranih podatkov priporočajo globoko zaoravanje žetvenih ostankov, ki načeloma ponujajo idealno mesto za razvoj fuzarijskih gliv.

Iz rezultatov omenjenih raziskav lahko sklepamo, da je minimalna obdelava s stališča mikotoksinov tvegana pridelovalna tehnika in ne pomaga pri zmanjševanju okužb. Tudi odstranitev in kurjenje žetvenih ostankov bi lahko zmanjšalo okužbe, vendar se zaradi siromašenja tal z organsko maso ne priporočata. Trendi podražitve energentov zaradi zmanjševanja zalog in pretirano povečevanje kmetij bodo naredili svoje in v bodoče lahko pričakujemo večanje deleža tal, obdelanih z minimalno obdelavo, negativne učinke bo potrebno zmanjševati z drugimi ukrepi, kot sta pravilna izbira odpornejših sort, prilagojeno gnojenje ter uporaba fitofarmaceutskih sredstev oziroma uporaba različnih čistilnih postopkov v žitno-predelovalni industriji.

2.4.3 Gnojenje

Z gnojenjem vplivamo na hitrost in kvaliteto razpada organske mase, na mikrobiološko aktivnost zemlje ter na samo odpornost rastlin. Tako so opazili manjšo okužbo pri uporabi sečnine v primerjavi z gnojilom na podlagi amonijevega nitrata (Blandino s sod. 2008, Martin s sod. 1991, Teich 1987). Heier s sodelavci (2005) je dokazal, da gnojenje z N lahko povečuje okužbo s fuzariozami in posledično z mikotoksini, nasprotno pa je Oldenburg s sodelavci (2007) dokazal, da gnojenje pšenice z 0–240 kg N/ha ni značilno povečalo vsebnost mikotoksinov. S pravilnim gnojenjem ne povečujemo vsebnosti mikotoksinov, nasprotno pa lahko s pretirano velikimi odmerki dušika povečamo primarne glivične okužbe in posledično tudi stopnje mikotoksinov (Oldenburg s sod. 2007).

2.4.4 Čas setve

Tvorba mikotoksinov je verjetnejša, če rastlina cveti v času velikega sproščanja glivnih trosov. Tako so zgodaj sejane koruze dokazano manj obremenjene z mikotoksini, vendar lahko vremenski pogoji vplivajo na te rezultate (Munkvold 2003). Pri žitih so ozimne sorte

manj okužene kot spomladanske. Roki setve se v bližnji prihodnosti verjetno ne bodo zelo spreminjali, vsaj v našem območju ne. Opaznejše spremembe bodo le pri rastlinah, sejanih pozno spomladi, katerih roki setve se bodo začeli premikati v sredino spomladi (Tubiello s sod. 2000).

2.4.5 Uporaba sort, odpornih na okužbe z glivami, tvorkami mikotoksinov, ter genetsko spremenjenih rastlin

Žlahtnenje rastlin na odpornost na okužbe je trenutno najbolj obetavna rešitev glede mikotoksinov. Cilj je ustvariti superiorne genotipe z rekombiniranjem različnih virov in tipov odpornosti, ki pa imajo tudi zadovoljive agronomske lastnosti. V novejšem času so identificirali mnogo tipov, odpornih na fuzarioze. Tako pri pšenici poznamo varietete Praag 8 in Novokrumka 0102 (ozimni pšenici iz vzhodne Evrope), Sumai 3, Ning 8343 in Wuhan #1 (rane sorte pšenice s Kitajske), Nobeokabozu (rana pšenica z Japonske) ter Frontana (rani tip iz Brazilije) (Snijders 2004). Toda vse te pšenice imajo razen odpornosti na fuzarioze nezadovoljive agronomske lastnosti, ki jih zahtevamo od modernih sort. Odporne tipe razdelimo na tri genske bazene: ozimne pšenice iz vzhodne Evrope, spomladanske pšenice s Kitajske in Japonske ter spomladanske pšenice iz Brazilije in Italije (Snijders 1990b, Tomohiro in Kazuhiro 2000). Trenutno se ti tipi uporabljajo za namene žlahtnenja in introdukcijo njihovih genov odpornosti v moderne sorte.

Obstajajo morfološke lastnosti pšenice, ki pomagajo ovirati okužbe. Tako so visoke in resaste pšenice lahko manj podvržene okužbam v primerjavi z nižjimi pšenicami brez res (Mesterházy 1987, Snijders 1990a, Hilton s sod. 1999, Gervais s sod. 2003), vendar obstajajo tudi izjeme. Tako so poskusi dokazali, da je tudi pri pritlikavih sortah mogoče odkriti genotipe z odlično odpornostjo na fuzariozo žitnega klasa (Buerstmayr s sod. 1999, Hilton s sod. 1999, Gervais 2003). QTL (Quantitative trait loci) so bili identificirani za odpornost pšenice na fuzarioze in pogosto sovpadajo z geni, ki vplivajo na morfološke lastnosti pšenice (Buerstmayr s sod. 1999, Snijders 2004, Schmolke 2008). Genetska

odpornost na fuzarioze sestoji iz treh komponent: odpornost na začetno penetracijo hif (tip 1), odpornost na širjenje glive po tkivu rastline (tip 2) (Schroeder in Christensen 1963, Snijders 1990a) ter odpornost v smislu sposobnosti razgraditve mikotoksinov (tip 3) (Miller s sod. 1985, Snijders 1990a). V novejšem času pa so identificirali še tip 4 odpornosti (odpornost na okužbe zrnja) ter tip 5 (tolerantnost na fuzarioze) (Mesterházy s sod. 1999). Raziskave so pokazale, da na primer kultivar Frontana nosi dva ali tri gene za tip 2 odpornosti in kultivar Ning 7840 tudi dva gena za tip 2 odpornosti, vendar so vsi ti geni med seboj različni (Tomohiro in Kazuhiro 2000, Singh s sod. 1995). Tako so rezultati raziskave pokazali, da na odpornost lahko vpliva manjše število genov (Tomohiro in Kazuhiro 2000, Yang 1994), v nasprotju s tem pa nekateri raziskovalci trdijo, da je odpornost izražena z mnogimi geni (Gocho s sod. 1992). Za žlahtnenje na odpornost je zaželeno, če en gen vpliva na več patogenov, in tako je Mesterházy (1987) odkril, da je genetska osnova za odpornost na glivi *F. culmorum* in *F. graminearum* pri ozimnih pšenicah enaka, prav tako je Snijders (1990c) poročal, da so jari tipi pšenice odporni na fuzarioze klasa, povzročene od *F. graminearum*, odporni tudi na *F. culmorum*. Špekulira se o obstoju antifuzarijskih proteinov, ki bi v primeru identifikacije koristili v transgenem pristopu reševanja odpornosti (Dahleen s sod. 2001).

Genetski inženiring za dosego cilja zmanjšanja vsebnosti mikotoksinov v pridelku uporablja različne pristope: povečuje odpornost rastlin na okužbe z mikotoksigenimi glivami, povečuje odpornost rastlin na napade žuželk ter spodbuja mehanizme rastline za lastno detoksifikacijo mikotoksonov oziroma sproženje procesov, ki inhibirajo delovanje mikotoksinov v zrnju (Duvik 2001). Tako npr. Bt-koruza nudi zaščito pred napadom koruzne veščice, kar posledično lahko zmanjša okužbe koruze s fuzariozami in omogoči, da koruza vsebuje manj mikotoksinov. Tako Hammond s sodelavci (2004) trdi, da lahko Bt-koruza zmanjša stopnjo pojava fumonizinov. Pristop genetskega inženiringa za povečevanje odpornosti proti glivam in na mikotoksine se počasi uveljavlja in v prihodnosti, z natančnejšo identifikacijo genov, lahko pričakujemo oprijemljivejše rezultate.

V prihodnosti bo nujna potreba po rastlinah, odpornih na povzročitelje mikotoksinov, ne glede na to, če so pridobljene s klasičnim načinom žlahtnenja, uporabo genetskih markerjev, transgenega pristopa ali kombinacijo vseh treh (Snijders 2004). Večja stopnja zaščite bo pomenila manjše tveganje za potrošnika ter pridelovalca glede izgub pridelkov. Uporaba genetskih markerjev lahko signifikantno skrajša čas iskanja in identifikacije odpornih genov v rastlinah brez uporabe patogenov in v prihodnosti se bo njihova uporaba povečala (Yang s sod. 2003). Prav tako je smiselno delati na skrajševanju časa ustvarjanja novih odpornih sort. Medtem ko bi s tehnologijo genetskega inženiringa to potekalo zelo hitro (trenutno vprašljiva etičnost te metode), pa pri uporabi navadnih žlahtniteljskih metod traja pridobitev novega kultivarja okoli 10 let po optimalnem scenariju. Uporaba genetskih markerjev bi v tem primeru skrajšala čas žlahtnenja za eno generacijo, prav tako pa bi zmanjšala možnost zgrešitve elitnih odpornih linij (Snijders 2004). Za več generacij bi žlahtnenje skrajšala tudi uporaba metode dvojnih haploidov (DH-metoda), s katero v eni generaciji dobimo popolne homozigote (Snijders 2004). Edina ovira te metode je visok strošek, povezan z njeno izvedbo. Z uporabo teh metod bi lahko signifikantno skrajšali čas pridobivanja novih tolerantnih sort.

2.4.6 Kemično zatiranje gliv, povzročiteljic fuzarioze klasa

Mnogo aktivnih snovi so preizkušali na delovanje proti glivičnim patogenom, ki proizvajajo mikotoksine ter predvsem na delovanje proti fuzariozam. Da bi bilo njihovo delovanje zadovoljivo, mora fungicid v celoti zatreti patogene, drugače lahko stimulira proizvodnjo mikotoksinov (D'Mello s sod. 1998). Pred letom 1998 je večina člankov in avtorjev kot najboljšo sredstvo za zatiranje fuzarioz navajalo foliarne pripravke na podlagi tebukonazola (Parry s sod. 1995, Suty s sod. 1996, Mesterházy in Bartok 1997). Danes imamo širšo paleto pripravkov, ki so registrirani za zatiranje gliv, povzročiteljic fuzarioz. Pancaldi s sodelavci (2004) je preučeval učinke fitofarmaceutskih pripravkov na osnovi bromokonazola, prokloraza ter tebukonazola na fuzariozo žitnega klasa in vsebnostjo DON v zrnju in ugotovil, da so vsi ti pripravki signifikantno zmanjšali okužbo in vsebnost

mikotoksinov v zrnju. Pripravki iz skupine triazolov (tebukonazol, metkonazol, propikonazol, bromukonazol, ciprokonazol) še danes ostajajo učinkovito sredstvo in v praksi tudi edino sredstvo za zmanjševanje stopnje okužbe s fuzariozami (Blandino s sod. 2006, Horsley s sod. 2006, Jennings s sod. 2000, Dardis in Walsh 2002, Edwards s sod. 2001), vendar so poskusi dokazali, da se z njihovo uporabo lahko vsebnost mikotoksinov v zrnju tudi poveča (Hysek s sod. 2005). Azoksistrobin, kadar je uporabljen kot samostojna aktivna snov, se v večini poskusov ni izkazal z delovanjem na fuzarioze, in je v nekaterih primerih celo povečal vsebnost DON v zrnju (Edwards s sod. 2001, Dardis in Walsh 2002, Pirgozliev s sod. 2002, Jennings s sod. 2000).

Raziskave fungicidov z delovanjem na talno mikofloro so pokazale določene ugodne učinke, vendar se zaradi možnosti negativnega delovanja na talno mikofloro niso uveljavili v praksi (Knudsen s sod. 1995).

V prihodnosti se bomo verjetno morali ukvarjati s povečevanjem stopnje odpornosti na trenutne pripravke iz družine triazolov. Obetajo pa se nam tudi novi pripravki, ki obljublajo boljšo in predvsem ciljno delovanje na patogene (Chase 2004). Prav tako se bo verjetno povečevala poraba fitofarmaceutskih sredstev, predvsem na račun slabo odpornih kultivarjev in sprememb podnebja, ker toplejša in bolj vlažna klima povečuje pritisk glivičnih obolenj in škodljivcev (Chen in McCarl 2001). Na drugi strani pa bosta verjetno vse boljša okoljska ozaveščenost ljudi in vse strožji pogoji za uporabo narekovala manjšo uporabo fungicidov. Vprašljivo je tudi, če se lahko trenutno in tudi v bližnji prihodnosti, povsem odpovemo uporabi fungicidov (Magkos s sod. 2006).

2.4.7 Biotično zatiranje gliv, povzročiteljic fuzarioze klasa

Ker je kemično varstvo le delno učinkovito, so se pojavile nekatere strategije vključevanja biotičnih pripravkov v strategijo zmanjševanja pojava mikotoksinov (Dawson s sod. 2002, Luz s sod. 2003). Bacon s sodelavci (2001) ter Varga in Toth (2005) sta ugotovila, da

nanos bakterije *Bacillus subtilis* na pšenico lahko vpliva na razvoj fuzarioz v endofitičnih razvojnih fazah. Nekih natančnejših in v praksi uporabnih raziskav na to tematiko nimamo in bi bilo potrebno izvesti dodatne raziskave, da bi možnosti uporabe biotičnih agentov v boju z mikotoksini znanstveno bolje pojasnili.

2.4.8 Zatiranje žuželk in pojav mikotoksinov

Žuželke so prav tako pomemben del v ciklu okužb z glivami, ki oblikujejo mikotoksine. Z mehanskimi poškodbami povrhnjic rastlinskih tkiv omogočajo, da se hife gliv lahko lažje naselijo in imajo boljši dostop do hranil, lahko pa so žuželke prenašalci trosov gliv. Tako bi na primer lahko z zatiranjem žuželk z uporabo Bt-koruze dosegli manjšo vsebnost mikotoksinov, kot je ugotovil Munkvold s sodelavci (1999). Rezultati njegove raziskave so pokazali, da bi naj bila Bt-koruzna signifikantno manj okužena s fuzariozami ter naj bi imela manjšo vsebnost fumonizinov v primerjavi z običajno koruzo. V kontrast tej raziskavi sta Schaafsma s sodelavci (2002) ter Bakan s sodelavci (2002) ugotovila, da je uporaba Bt-koruze le rahlo zmanjšala glivične okužbe ter posledično vsebnost DON v zrnju. V tem trenutku ne obstajajo zanesljivi znanstveni dokazi, da bi transgene rastline zmanjševale vsebnost mikotoksinov. Mnogo raziskav se še mora opraviti v tej smeri, da bomo imeli zanesljive rezultate, predvsem pa se morajo pojaviti transgene rastline z resnično odpornostjo na mikotoksine. V prihodnosti se bo intenziteta teh raziskav povečala, prav tako bo verjetno tehnologija, kakovost in varnost transgenih rastlin napredovala in tako bodo lahko te rastline posledično zanimiva alternativa za zmanjševanje mikotoksinov (GMO 2008).

2.4.9 Možnosti zatiranja v ekološkem kmetijstvu

Ekološko kmetovanje ima v zadnjem času ogromen tržni potencial, ki ga je morda trenutna ekonomska kriza nekoliko zmanjšala. Tako postaja zanimiva alternativa klasičnemu kmetovanju in površine, namenjene ekološkemu kmetovanju, kažejo trend naraščanja (Ministrstvo 2012). Seveda je to kmetovanje od začetka ob uvedbi težje, zahtevano je več znanja, spremenjeni so mnogi pogoji in prakse. Trenutno za uporabo v ekoloških pridelovalnih sistemih ni na voljo posebnih biotičnih pripravkov za škropljenje v klas, ki bi bili namenjeni prav specifičnemu preventivnemu zatiranju gliv, povzročiteljic fuzarioze klasa. V razvoju pri raziskovalnih inštitucijah so pripravki, ki pa še niso komercialno dostopni (ustni vir).

Pri pridelovanju v ekoloških pridelovalnih sistemih se zanašamo na naslednje pozitivne prakse (Uredba ES 834/2007 2007, Uredba ES 889/2008 2008, Pravilnik o ekološki pridelavi in predelavi kmetijskih pridelkov oziroma živil 2010, Jouany 2007, Mäder s sod. 2007):

- Sejemo preizkušene sorte, ki niso občutljive in so visoko prilagojene na lokalno okolje. Dejansko je potrebno s poskusi natančno preveriti, katere sorte so ustrezne za lokalno okolje in kakšna je vsebnost mikotoksinov v zrnju ob žetvi.
- Uporabimo čim manj okuženo seme, po možnosti razkuženo z nekaterimi alternativnimi ekološkimi pripravki na podlagi mikroorganizmov in izločkov rastlin.
- Imamo pester kolobar, kar je v ekološki pridelavi samo po sebi umevno.
- Sejemo na srednjo gostoto, sorte z višjo slamo, ker oddaljenost klasa od tal lahko nekoliko zmanjša okužbe.
- Vnesemo čim več organskih gnojil in z razpoložljivimi postopki obdelave tal maksimalno pospešimo razpad slame žit in koruznice, da se prekine razvojni krog gliv, razvijajočih se na žetvenih ostankih.
- Ob žetvi nastavimo kombajn tako, da čim bolj selektivno odstrani zrnje, ki po teži in obliki odstopa od povprečja.

- Pred predelavo uporabimo čim novejšo tehnologijo čiščenja zrnja, po možnosti tudi stroje, ki zrnje obrusijo od zunaj.
- Za predelavo v polnozrnatu moko uporabimo samo zrnje nadpovprečne debeline, pri katerem s prostim očesom ni možno zaznati nobenih sprememb zaradi glivičnih okužb.
- Pred predelavo zrnja uporabimo hitre ELISA-teste za okvirno določitev vsebnosti mikotoksinov, četudi zrnje na oko daje videz, da je povsem zdravo.

2.5 Modeli napovedovanja okužb z glivami, povzročiteljicami fuzarioz

V zadnjem času se je pojavilo kar nekaj takih modelov, ki z upoštevanjem nekaterih vremenskih parametrov ter parametrov na terenu bolj ali manj uspešno napovedujejo možnosti za okužbe žit z glivami, povzročiteljicami fuzarioz. Enega takih modelov je naredil Widstrom s sodelavci (2000) za ocenjevanje okužb žit v obdobju pred žetvijo v ZDA. Model za napovedovanje vsebnosti DON v pšenici sta predstavila Hooker s sodelavci (2002) ter De Wolf s sodelavci (2003). Marin s sodelavci (1999) je postavil okvire modela za napovedovanje fumonizinov. Ti modeli služijo za zgodnje napovedovanje prevelikih stopenj mikotoksinov v posameznih letih. V prihodnosti se nam obetajo novejši modeli, ki bodo temeljili na dolgoročnih vremenskih informacijah in zgodovinskih podatkih o pojavih mikotoksinov ter bodo tako imeli že neko večjo praktično uporabnost.

2.6 Ukrepi za zmanjševanje pojava mikotoksinov pri in po žetvi

Nastavitev kombajna ima pomembno vlogo pri zmanjšanju vsebnosti mikotoksinov v požetem zrnju, ker s pravilno nastavitvijo lahko odstranimo veliko močno okuženih ter lažjih zrn, ki vsebujejo največ mikotoksinov (Nowickis sod. 1988, Chelkowski in

Perkowski 1992). Prav tako ima pomembno vlogo skladiščenje zrnja, ki sicer samo po sebi ne zmanjšuje koncentracije že vsebovanih toksinov, temveč pri pravilnih pogojih skladiščenja zmanjšuje možnost za nastanek novih. Tako mora biti zrnje pred vstopom v skladiščni prostor posušeno na ustrezno vlago. Birzele s sodelavci (2000) dokazuje, da se tvorba DON s strani *Fusarium* spp. v skladišču signifikantno poveča pri vlagi zrna 17–20 % pri 20 °C, medtem ko se nekatere glive rodu *Aspergillus* lahko razvijajo že pri 13–18-odstotni vlažnosti. Na splošno se za skladiščenje priporoča optimalna vlaga 10–14 %, kar so potrdili tudi rezultati raziskave Ono s sodelavci (2002). Tudi ukrepi pri predelavi žit imajo določene vplive na vsebnost toksinov. Tako ločevanje celih zrn od poškodovanih lahko zmanjša vsebnost mikotoksinov (Balzer s sod. 2004, Jackson in Bullerman 1999, Malone s sod. 1998). Tudi pranje zrnja pred nadaljnjo obdelavo lahko zmanjša njihovo vsebnost (Fandohan s sod. 2005, Wilson s sod. 2004). Mletje nima neposrednega učinka na mikotoksine, vendar povzroči njihovo različno porazdeljevanje po mlevskih frakcijah. Z odstranitvijo frakcij, ki vsebujejo največje količine mikotoksinov, lahko zmanjšamo vsebnosti v končnih mlevskih proizvodih (Saunders s sod. 2001). Rezultati uporabe termičnih postopkov pri zmanjševanju mikotoksinov se zelo razlikujejo. Tako so nekateri mikotoksini, kot je DON, v nekaterih raziskavah večinoma bili spoznani kot odporni na temperaturni razpad (Hazel in Patel 2004, Larsen s sod. 2004, Scott s sod. 1983), nekateri pa so v drugih raziskavah ugotovili precejšen razpad ob izpostavljenosti visokim temperaturam (Neira s sod. 1997). Predvsem kuhanje ima signifikanten učinek zmanjšanja vodotopnih mikotoksinov (Nowicki s sod. 1988, Abbas s sod. 1988, Visconti s sod. 2004, Sugita-Konishi s sod. 2006, Ragab s sod. 2007). Tudi na fumonizine, na primer moniliformin, je bilo dokazano obsežno razgradno delovanje visokih temperatur (Meister in Springer 2004, Brera s sod. 2004, Voss s sod. 2001, Castelo s sod. 1998). V prihodnosti se tehnike priprave hrane najverjetneje ne bodo dramatično spreminjale. Izboljšave se obetajo predvsem glede detekcije okuženih zrn z uporabo optičnih detektorjev (Delwiche in Hareland 2004, Delwiche s sod. 2005) ter možnosti uporabe biološke detoksifikacije, ki kaže obetajoče rezultate (Fuchs s sod. 2002, Molnar s sod. 2004). Vendar glede uporabe raznih optičnih detektorjev že danes obstajajo določeni zadržki zaradi občutno prevelikega odpada zrnja (kala).

2.7 Možnosti za zmanjševanje vsebnosti mikotoksinov pri postopkih pred mletjem

Mnogo raziskav je preučevalo učinek postopkov pred mletjem na zmanjševanje mikotoksinov v mlevskih proizvodih. Zmanjševanje temelji predvsem na dejstvu, da se močno okužena zrna razlikujejo od zdravih – tako vizualno kot po teži in obliki. Chelkowski in Perkowski (1992) sta ugotovila, da se je največ DON nahajalo v dveh frakcijah pod 2,5 mm (96 %), medtem ko je bilo v ostalih dveh nad 2,5 mm zelo malo DON (4 %), vendar sta frakciji pod 2,5 mm obsegali približno 61,2 % vsega zrnja, zato je popolna odstranitev teh dveh frakcij ekonomsko neupravičena. Novejše sorodne raziskave so potrdile korelacijo med velikostjo zrn in vsebnostjo DON v njih tudi pri ostalih žitih (Perkowski 1998, Perkowski in Kaczmarek 2002).

2.7.1 Postopki skladiščenja

Potrebno je vzdrževati ustrezno vlago skladiščenega materiala, ki ne omogoča nadaljnega razvoja gliv, ki tvorijo mikotoksine. Velja standardno pravilo, da skladiščimo material s primerno vlago v suhem, čistem in temnem prostoru, ki naj omejuje dostop različnih živali. Priporočeno je razkuževanje prostora pred skladiščenjem, da v čim večji meri uničimo morebitne mirujoče škodljivce. Zrnje mora biti pred skladiščenjem posušeno na ustrezno vlago. Birzele s sodelavci (2000) dokazuje, da se tvorba DON v skladišču signifikantno poveča pri vlagi zrna 17–20 % pri 20 °C, medtem ko se *Aspergillus* sp. lahko razvija že pri 13–18-odstotni vlažnosti. Na splošno se za skladiščenje priporoča optimalna vlaga 10–14 %, kar so potrdili tudi rezultati raziskave Ono s sodelavci (2002). Med skladiščenjem potekajo v zrnju različni procesi, kot so dihanje zrnja, biokemični procesi znotraj zrnja ter mikrobiološki procesi. Vsi potekajoči procesi lahko ob neprimerni stopnji vlage vplivajo negativno na kakovost zrnja. Prednost skladiščenja v kontroliranih pogojih nam omogoča, da lahko s temi procesi manipuliramo, jih podaljšujemo oziroma prekinjamo ter tako zagotavljamo največjo možno kakovost surovine. Za skladiščenje vlažnega zrnja se lahko uporabi tehnika s pomočjo CO₂, kjer se ustvari anaerobne razmere

za skladiščenje. V takih pogojih samo anaerobno okolje skladišča preprečuje nadaljnji razvoj in nastanek micelija gliv kljub neustrezni vlagi zrnja, kar v nadaljevanju tudi preprečuje nastanek skladiščnih mikotoksinov. Pri dolgotrajnejšem skladiščenju se priporoča izvajanje rednih analiz (tedenski pregledi) na stopnjo vlažnosti, na prisotnost skladiščnih škodljivcev, temperaturo zrnja (kvarni procesi povečujejo temperaturo zrnja) in podobne spremembe (ustni vir).

2.7.2 Sušenje in pranje zrnja

Uporaba vročega zraka pri 160 °C ni pokazala signifikantnega razkroja DON (Yumbe-Guevara s sod. 2003). Kristensen s sodelavci (2005) je ugotovil, da s sušenjem rži v bobnu lahko zmanjšamo glivične kontaminante, medtem ko na obstoječe mikotoksine postopek ni imel vpliva. Kwon s sodelavci (2004) je ugotovil, da je pranje ječmenovega zrnja zmanjšalo vsebnost DON do 67 %, prav tako Jouany (2007) trdi, da rezultati raziskav kažejo, da pranje zrnja pred nadaljnjo obdelavo lahko signifikantno zmanjša vsebnost mikotoksinov. Ragab s sodelavci (2007) pa navaja, da so rezultati pranja zrnja sicer pokazali zmanjšanje DON za 24 %, vendar avtor navaja veliko nihanje med rezultati podobnih študij.

2.7.3 Postopki klasičnega čiščenja na strojih za čiščenje zrnja

Scott s sodelavci (1983) je ugotovil, da je bilo po čiščenju največ DON ugotovljenega v mlevskih odpadkih (16,7 mg/kg), očiščeno zrnje ga je vsebovalo 4,6 mg/kg, vendar je pričakovana le majhna redukcija DON, ker je frakcija mlevskih odpadkov vsebovala le 3,2 % okuženih zrn. Scott s sodelavci (1984) ter Young s sodelavci (1984) sta ugotovila, da čiščenje ni signifikantno zmanjšalo vsebnosti DON v zrnju. Redukcijo 5,5–19 % s postopki čiščenja je ugotovil Abbas s sodelavci (1985). Seitz s sodelavci (1985) je ugotovil

zmanjšanje DON za 16 %, odstranjena pšenica je vsebovala 4,7-krat več DON kot očiščena. Normalno, enojno čiščenje okužene pšenice, je pokazalo 48–86-odstotno učinkovitost zmanjšanja vsebnosti DON, v odvisnosti od vsebnosti DON (Seitz s sod. 1986). Brušenje pšenice lahko učinkovito zmanjšuje vsebnost DON (do 22 %), ker je neenakomerno porazdeljen po zrnju, z največjimi deleži v zunanjih plasteh zrnja (Nowicki s sod. 1988). Larsen s sodelavci (2004) ocenjuje, da so s postopki čiščenja dosegli tudi do 74-odstotno zmanjšanje DON, vendar v praksi s čiščenjem dosežemo le majhno zmanjšanje s tem postopkom (do 20 %). Čiščenje in sortiranje ima različen vpliv na zmanjšanje DON, od zelo velikega (74 %) pri zrnih, na katerih so fuzarioze naredile veliko škodo, do relativno majhnega (20 %) pri zrnju, ki je okuženo s fuzariozami, vendar ima normalno obliko in težo (Hazel in Patel 2004). Visconti s sodelavci (2004) je ugotovil, da je čiščenje le rahlo zmanjšalo vsebnost DON. Bullerman in Bianchini (2007) trdita, da čiščenje lahko odstrani DON za 2–8 %. Kushihiro (2008) na podlagi rezultatov mnogih raziskav trdi, da čiščenje pred mletjem do neke mere zmanjša vsebnosti DON v končnih proizvodih, predvsem na račun odstranitve prahu in praznih izmaličenih zrn. Rezultati so pokazali, da so frakcije po čiščenju zrnja, ne glede na to, ali je bilo zrnje iz umetno ali naravno okužene pšenice, vsebovale toksine (Lancova s sod. 2008).

2.7.4 Novejši postopki z uporabo težnostnih sit ter optičnega selekcioniranja zrn

Tzachuk s sodelavci (1991) je ugotovil, da je s težnostnim sitom možno odstraniti izmaličena ter prazna zrna od ostalih in da je v teh ponavadi največ deoksinivalenola. Z odstranitvijo teh zrn se zmanjša vsebnost deoksinivalenola v moki, vendar avtor navaja, da obstaja problem uporabe odstranjenega zrnja, ker vrednosti DON v njem presegajo dovoljene stopnje za krmo. Z uporabo optičnega detektorja pri valovni dolžini ≈ 1200 nm lahko dosežemo 95-odstotno detekcijo s fuzariozami okuženih zrn (Delwiche in Hareland 2004). Delwiche s sodelavci (2005) je ugotovil, da je en prehod pšenice skozi optični sorter zmanjšal stopnjo DON v povprečju za 51 %, nadaljnji prehodi pa še za dodatnih 61 %. V kontrast mehničnemu čiščenju je Desjardins s sodelavci (2000) ugotovil, da ročno

odstranjevanje zrn na podlagi videza zrnja (tradicionalno čiščenje v Nepal) lahko prav tako učinkovito zmanjša stopnjo mikotoksinov. Seveda si tega v praksi pri večjih količinah zrnja nihče ne more privoščiti.

2.8 Možnosti za zmanjševanje vsebnosti mikotoksinov pri postopkih mletja

Velika večina pšenice je predelana v industrijskih mlinih in namenjena človeški prehrani. Mnogo raziskovalcev je ugotovilo neuniformno porazdeljenost trihotecenskih mikotoksinov po različnih morfoloških strukturah zrnja. Največje vsebnosti so navadno v zunanjih delih zrnja in manjše v notranjosti. Zunanje dele zrnja navadno pri mletju odstranimo in se tako lahko znebimo pomembnega dela celokupne količine mikotoksinov (Scott s sod. 1983, Scott s sod. 1984, Young s sod. 1984, Abbas s sod. 1985, Seitz s sod. 1986, Lee s sod. 1987, Nowicki s sod. 1988, Trigo-Stockli s sod. 1996, Larsen s sod. 2004, Hazel in Patel 2004, Visconti s sod. 2004, Railiene s sod. 2005, Jouany 2007, Naresh in Aldred 2007, Bullerman in Bianchini 2007, Gärtner s sod. 2007, Palpacelli s sod. 2007, Kushiro 2008).

2.8.1 Temperiranje – navlaževanje

Od preučevanih metod pri predelavi žita je velik učinek zmanjšanja toksinov dala metoda temperiranja (Kwon s sod. 2004). V raziskavi Ragaba s sodelavci (2007) je namakanje zrnja za 6 in 12 ur pred nadaljnjo obdelavo zmanjšalo vsebnost DON v povprečju za 13 %. Umivanje zrnja pred nadaljnjo obdelavo je v enaki raziskavi v povprečju zmanjšalo vsebnost DON za 24 %. Postopka v raziskavi nista imela signifikantnega učinka na zmanjšanje DON.

2.8.2 Mletje

Po mletju je vsebnost DON padla iz izhodiščnih 4600 µg/kg v zrnju na 4100 µg/kg v moki, v otrobih je bilo 4600, v mlevskih odpadkih 6900 ter v krmni moki 8000 µg/kg (Scott s sod. 1983). Rezultati so pokazali, da pri čiščenju, mletju in peki ni prišlo do signifikantnih izgub DON. Pri mletju se je pokazalo, da je največ DON prisotnega v zunanjih delih, dvakratno povečanje so opazili v mlevskih odpadkih in krmnih otrobih, medtem ko so v otrobih izmerili manjše povečanje DON (Scott s sod. 1984). Rezultati analize DON in ergosterola so pokazali, da je bilo največ DON in ergosterola v zunanjih delih zrnja (otrobi 0,98 mg/kg) in da se z odstranitvijo otrobov pri mletju lahko zmanjša DON, medtem ko ga je bilo v notranjih delih zrna relativno malo (moka druge meljave 0,28 mg/kg) (Young s sod. 1984). Abbas s sodelavci (1985) je odkril, da mletje zrnja prav tako ni odstranilo DON (zadržalo se je 90,1–98,2 % DON), vendar se je vsebnost DON razlikovala v frakcijah (21 mg/kg v otrobih in 1 mg/kg v moki druge meljave). V naslednjem poskusu za oceno porazdelitve DON so ga zaznali v vseh mlevskih frakcijah, uporabljenih v poskusu. Povprečna količina DON v moki druge meljave je bila 90 % vsebnosti, najdene v očiščeni pšenici (Seitz s sod. 1985). Različni uporabljeni načini čiščenja niso popolnoma odstranili DON, so pa zmanjšali njegovo vsebnost za 14–52 %. V vseh mlevskih frakcijah od okuženih vzorcev so zaznali DON, vendar je bila največja vsebnost v mlevskih odpadkih in najmanjša v beli moki (Seitz s sod. 1986). Lee s sodelavci (1987) je ugotovil 24–48-odstotno zmanjšanje DON v frakcijah, namenjenih človeški prehrani. Mletje ni zmanjšalo DON, ampak le povzročilo njegovo segmentiranost po frakcijah, v moki je bilo 29 % ter v moki (zdrob) 52 % od celotne vsebnosti DON (Nowicki s sod. 1988). V moki iz sortirane pšenice so zaznali edino DON, in to 80–109 % od izhodiščne količine v zrnju (Tkachuk s sod. 1991). Pri preiskavi frakcij moke so ugotovili, da se DON in ZEA pojavljata v vseh frakcijah, vendar nista v vseh v enakem deležu. Največ toksinov so ugotovili v otrobih (3,4 mg/kg), najmanj pa v moki (1,5 mg/kg) (Trigo-Stockli s sod. 1996). Dexter s sodelavci (1996) je ugotovil, da je ostanek DON v moki po čiščenju in mletju pri vseh kultivarjih pšenice znašal okoli 50 %. Pri semolina mletju (zdrob) se je odstranilo do 50 % vsebnosti DON (Dexter s sod. 1997). Rezultati študije dokazujejo, da so mikotoksini večinoma v zunanjih delih zrnja, zato jih je možno s predelavo in odstranjevanjem teh delov v določeni

količini zmanjšati (Schollenberger s sod. 2002). Pri suhem mletju pšenice se največ DON pojavlja v otrobih in mlevskih ostankih in najmanj v beli moki, zato se z odstranitvijo teh frakcij lahko zmanjša DON (Larsen s sod. 2004). Pri suhem mletju pšenice na različne frakcije je največjo količino DON moč opaziti v frakcijah, ki vsebujejo zunanje dele zrnja, medtem ko večina rezultatov raziskav dokazuje, da se lahko pri moki druge meljave njegova količina zmanjša do 50 % (Hazel in Patel 2004). Količina DON v semolina moki (zdrob) je bila 37 % od začetne vrednosti (Visconti s sod. 2004). Railiene s sodelavci (2005) je ugotovil, da se je pri tehnološkem postopku površinskega čiščenja in mletja žit mikrobna okužba zelo zmanjšala na račun ločitve sekundarnih produktov (otrobi, mlevski odpadki itd.) od primarne moke. Največja vsebnost DON v zrnju je znašala 7730 µg/kg ter v moki 1380 µg/kg, zmanjšanje DON lahko pripišemo postopkom mletja (Schollenberger 2005). Mletje nima neposrednega učinka na toksine, ampak povzroči njihovo fracioniranost v mlevskih frakcijah (Jouany 2007). Največ toksinov je prisotnih v zunanjih delih zrnja, zato lahko z odstranitvijo teh frakcij (otrobi, zdrob, mlevski odpadki) reduciramo mikotoksine (Bullerman in Bianchini 2007). Rezultati meritev razporeditve deoksinivalenola v zrnju, ki jo je izvedel Gärtner s sodelavci (2007), so pokazali, da ga je bilo največ v zunanjih delih zrna (v otrobih 5-krat in v mlevskih odpadkih 3-krat več kot v moki druge meljave). Pri uporabi mlevskega kamna so opazili večje zmanjšanje toksinov kot pri uporabi mlevskih valjev (Palpacelli s sod. 2007). Pri mletju lahko prihaja do segmentiranja DON po mlevskih frakcijah, vendar najbolj okužene frakcije predstavljajo le majhen del zrnja, zato je nezanemarljiva količina DON lahko prisotna tudi v najbolj fini moki (Kushiro s sod. 2008). Pri mletju so največ deoksinivalenola našli v otrobih, najmanj pa pri moki prve meljave, kar kaže na neuniformno porazdeljenost DON (Lancova s sod. 2008).

2.8.3 Postopki skladiščenja moke in drugih proizvodov

Pšenično zrnje je precej dlje časa skladiščeno, medtem ko se skladiščenje moke izvaja samo za krajši čas, večinoma nekaj mesecev. Moka je kompleksna mešanica organskih

snovi in mikrobov, ki je pod normalnimi pogoji zaradi nizke stopnje vlage mikrobnostabilna. Polnozrnate moka so signifikantno bolj obremenjene z mikrobi zaradi načina mletja (zunanji deli zrna se v veliki meri vključujejo v moko) (Chelkowski in Perkowski 1992). Dva pomembnejša procesa, ki se pojavita med skladiščenjem moka, sta oksidacija bistvenih sestavin ter razvoj žarkosti moka. Raziskave so pokazale, da je imela moka, skladiščena 45 dni pri sobni temperaturi, izboljšane lastnosti za peko tort in piškotov ter slabše za peko kruha (Sur s sod. 1993). Salman in Copeland (2007) sta ugotovila, da so bile pri skladiščenju pri 20 in 30 °C v primerjavi z vzorcem, skladiščenim pri 4 °C, spremembe signifikantne po 2–3 mesecih skladiščenja, kar lahko negativno vpliva na kvaliteto za končne uporabnike. Pojavljale so se velike spremembe v stopnji maščobnih kislin. Rezultati 6-mesečnega skladiščenja moka pri -4 °C so pokazali rahlo povečanje kislosti in tendenco razbarvanja moka (Ortolan 2010).

Večina standardnih industrijskih mok je podvržena postopkom staranja, ki je lahko pospešeno z dodajanjem raznih kemikalij, v večini pa traja maksimalno skladiščenje moka 1–2 meseca. Neindustrijski proizvajalci mok se dodajanju kemikalij izogibajo in starajo moko na tradicionalni način, kar večinoma podaljša čas skladiščenja na 2–4 ali več mesecev. Dinamika procesov med standardno industrijsko moko ter tradicionalno polnozrnato moko si je podobna, vendar ne enaka. Postopkov, ki se dogajajo v tradicionalni polnozrnati moki med daljšim skladiščenjem, pred našo raziskavo še niso preučevali. V literaturi praktično ni podatkov o tem, ali se lahko vsebnost mikotoksinov med skladiščenjem moka kako spremeni. Ena možnost je, da glive v neustrezno skladiščeni moki nadaljujejo razvoj in produkcijo mikotoksinov, druga možnost pa je, da se mikotoksini med skladiščenjem razkrajajo zaradi kemijskih procesov staranja moka. V literaturi o tem ni navedb.

2.9 Zmanjševanje vsebnosti DON s postopki termične obdelave

Trihoteceni so relativno odporni na temperature; DON je stabilen pri 120 °C, dobro stabilen pri 180 °C ter zmerno stabilen pri 210 °C, v šibko kislih raztopinah je relativno obstojen, v alkalnih raztopinah pa hitro razpade (Hazel in Patel 2004, Larsen s sod. 2004). DON je vodotopen. V večini primerov okužba s fuzariozami ter posledično z DON ni signifikantno poslabšala pekovskih lastnosti ter obstojnosti testenin ter rezancev, le v primerih uporabe močno okužene moke so opazili rahlo slabše rezultate peke, manjšo moč vezave glutena ter spremembe barve testenin (Seitz s sod. 1986, Dexter s sod. 1996, Prange s sod. 2005).

2.9.1 Peka

Scott s sodelavci (1983) je ugotovil, da peka pri 205 °C za 30 minut ni uničila DON. Pri peki ni bilo opaziti signifikantnega zmanjšanja DON (Scott s sod. 1984). Young s sodelavci (1984) je ugotovil, da je peka eliminirala do 35 % DON. Pri peki kruha se je njegova količina zmanjšala za 33,3, 19,1 in 69,4 % (Abbas s sod. 1985). 24-minutna peka pri 215 °C je pri kruhu iz manj okužene pšenice zmanjšala DON ter ga v primeru zelo okužene pšenice povečala v kruhu (Seitz s sod. 1986). Peka ni odstranila DON (Dexter s sod. 1996). Neira s sodelavci (1997) je ugotovil zmanjšanje vsebnosti DON od testa do produkta, kar je v povprečju znašalo 44,3 % s skrajnima vrednostma 96,6 % in 16,8 %. Čas, potreben za 90-odstotni razkroj DON in NIV, je bil signifikantno krajši kot za ZEA in je v standardnih vzorcih toksinov pri 220 °C znašal 11 minut za DON, 10 minut za NIV in 85 minut za ZEA (Yumbe-Guevara s sod. 2003). Največja vsebnost DON v zrnju je znašala 7730 µg/kg, v moki 1380 µg/kg ter v kruhu 690 µg/kg, zmanjševanje DON se pripisuje predelavi žit ter peki kruha (Schollenberger 2005). Segrevanje DON lahko povzroči razpad in ustvarjanje novih razpadnih produktov, ki so manj citotoksični kot DON, zato se zato njegova toksičnost zaradi segrevanja lahko zmanjša (Bretz s sod. 2006). Rezultati peke kruha so pokazali, da peka ni zmanjšala vsebnosti DON v kruhu, je pa

zmanjšala njegovo citotoksičnost (Sugita-Konishi s sod. 2006). Peka pri 210 °C za 14 minut ni pokazala signifikantnega zmanjšanja vsebnosti deoksinivalenola (Lancova s sod. 2008).

2.9.2 Fermentacija

Fermentacija pri tradicionalni pridelavi koruznega piva po petih dnevih ni razkrojila fumonizmov, vsebnost DON pa se je zmanjšala za 50 % (Desjardins s sod. 2000). Pri testu, fermentiranem pri 50 °C, je bila maksimalna redukcija DON 56 % pri dunajskem ter 41 % pri francoskem kruhu, pri argentinski pripravi kruha lahko fermentacija zmanjša DON pri temperaturah >30 °C (Samar s sod. 2001). Stopnja zmanjšanja DON v ječmenu pri treh preučevanih metodah (umivanje z vodo, priprava ječmenovega čaja in alkoholna fermentacija) je znašala 67 %, 72,5 % in 100 % (Kwon s sod. 2004). Do 50 % deoksinivalenola se ohrani pri procesih v testu in procese alkoholne fermentacije (Naresh in Aldred 2007).

2.9.3 Kuhanje in vrenje

Signifikantno zmanjšanje DON (do 49 %) zaradi hidrolitskega razpada so opazili v raziskavi pri kuhanju kitajskih rezancev in špagetov ter delno pri prekuhavanju špagetov (Nowicki s sod. 1988). Abbas s sodelavci (1988) je dokazal, da je proces priprave tortilj signifikantno zmanjšal vsebnosti mikotoksinov v tortiljah, in sicer ZEA za 59–100 %, DON za 72–82 % ter 15-acetil DON za 100 %. Kuhanje špagetov za sedem minut pri 100 in 125 mililitrov vode z dodatkom 1 % NaCl je zmanjšalo DON iz 7,0 mg/kg na 2,7 mg/kg ter iz 0,26 mg/kg na 0,048 mg/kg (Visconti s sod. 2004). Po kuhanju je ostalo v rezancih ≈0,30 mg/kg od 0,86 mg/kg, v vodo, uporabljeno pri kuhanju, pa se je absorbiralo ≈0,37 mg/kg. Kuhanje rezancev je torej pokazalo signifikantno zmanjšanje DON ter njegove

citotoksičnosti, večino odstranjenega DON so našli v vodi, ki se je uporabila za kuhanje (Sugita-Konishi s sod. 2006). Ragab s sodelavci (2007) dokazuje, da je kuhanje v navadni vodi pokazalo zmanjšanje DON za 50–70 %, kuhanje v alkalni vodi pa do 93 %.

2.9.4 Ekstruzija

Ekstruzija pri moki in zrnju, tretiranem z natrijevim disulfitom, ni pokazala signifikantnega zmanjšanja DON v primerjavi z moko in zrnji, ki jih niso podvrgli ekstruziji (Accerbi s sod. 1999), nasprotno pa je Cazzaniga s sodelavci (2001) ugotovil, da je ekstruzija pri koruzi v vseh poskusih zmanjšala DON za več kot 95 %, pri aflatoksinu B₁ pa je detoksifikacija znašala 10–25 %. Ekstruzija je pokazala izjemno zmanjšanje mikrobov, in sicer v primeru koncentrirane krme celo za 70 % (Raiiene s sod. 2005). Ekstruzija kaže obetavne rezultate glede redukcije mikotoksinov (Bullerman in Bianchini 2007).

2.9.5 Cvrtje

Rezultati so pokazali največjo stopnjo zmanjšanja DON zaradi cvrtja pri moki z umetno okužbo (260 µg/kg), in sicer 66 % pri 169 °C, 43 % pri 205 °C ter 38 % pri 243 °C. Pri naravno okuženi moki (1200 µg/kg) je bilo zmanjšanje DON 28 % pri 169 °C, 21 % pri 205 °C ter 20 % pri 243 °C (Samar s sod. 2007).

2.9.6 Uporaba pare za razstrupljanje (detoksifikacijo)

Pri stopnji DON ≈8 mg/kg je 15-minutna uporaba nasičene pare pri 100 °C (navlaževanje zrnja pred mletjem na 22 % vlage) in 10 g Na₂S₂O₅ na kilogram zrnja že verjetno dovolj za skoraj popolno uničenje DON (Dānicke s sod. 2005). Največjo redukcijo DON pri uporabi

super segrete pare so opazili pri temperaturi 185 °C in šestih minutah uporabe, znašala je 52 % pri vseh treh hitrostih gibanja pare (Cenkowski s sod. 2007; Pronyk s sod. 2006).

2.10 Ostale metode razstrupljanja (detoksifikacije)

Kuhanje v vodi z različnimi alkalnimi dodatki se je izkazalo kot učinkovito pri detoksifikaciji DON. Tako Abbas s sodelavci (1988) trdi, da je alkalna voda (2 % Ca(OH)_2), ki se je uporabila za kuhanje koruze, uničila večino mikotoksinov, po kuhanju pa ni vsebovala nobenih mikotoksinov, razen sledov *trans*-zearalenona. Biološka detoksifikacija je lahko učinkovita metoda, kar je dokazal He s sodelavci (1993). Krma iz plesnive koruze je vsebovala 4800 $\mu\text{g/kg}$ DON in biološka detoksifikacija je zmanjšala vsebnost za več kot 50 % na 2100 $\mu\text{g/kg}$. Namakanje z NaHSO_3 za eno uro pri različnih koncentracijah brez ekstruzije je zmanjšalo vsebnost DON iz 7300 $\mu\text{g/kg}$ na 800 $\mu\text{g/kg}$ in na 300 $\mu\text{g/kg}$ z izvedbo ekstruzije (Accerbi s sod. 1999), medtem ko Cazzaniga s sodelavci (2001) zaključuje, da je 1 % dodatek $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}$ rahlo povečal detoksifikacijo, vendar ni imel signifikantnega vpliva na aflatoxin B₁. Pri dodatku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ je bila redukcija DON pri obeh koncentracijah tolikšna, da ni bil več zaznaven z uporabljenimi metodami detekcije (Dänicke s sod. 2005). Namakanje v alkalni vodi za šest in 12 ur je pokazalo zmanjšanje za 63 in 59 % (Ragab s sod. 2007).

2.10.1 Primerjava vsebnosti trihotecenskih mikotoksinov v zrnju ob žetvi med konvencionalno, integrirano in ekološko pridelavo

Ekološka pridelava pridobiva pri potrošnikih na pomenu in veljavi, zato je posledično postala zanimiva tržna niša tudi za pridelovalce, tako tudi vse več ekološko pridelanega zrnja žit najde svojo pot do potrošnikov. Ekološka pridelava se od konvencionalne in integrirane pridelave razlikuje v grobem glede (ne)uporabe sintetičnih mineralnih gnojil in

sintetičnih FFS. Ker tak način pridelave pridobiva na pomenu, se je pojavila potreba po podatkih glede fuzarijskih okužb in vsebnosti mikotoksinov v ekološki pridelavi zrnja (Magdos s sod. 2006). Mnogo raziskovalcev ocenjuje tudi, da je stopnja tveganja zaradi ostankov pesticidov in aditivov manjša od stopnje tveganja z akutnimi in kroničnimi učinki mikrobioloških in ostalih naravnih toksinov (Cliver 1999, Kuiper-Goodman 1999, cit. po Magkos s sod. 2006).

V javnosti se pojavljajo splošne trditve, da je pojav mikotoksinov pogostejši in v večjih vsebnostih pri ekološki (organski) pridelavi v primerjavi s konvencionalnimi načini pridelave žit (Muri s sod. 2009). Po pregledu literature lahko trdimo, da so razmerja med vsebnostmi mikotoksinov in pridelovalnimi sistemi kompleksnejša, kot navajajo take splošne trditve. Magkos (2006) navaja, da trenutno ne obstajajo znanstveni dokazi, ki podpirajo ali zavračajo tezo, da je ekološka hrana varnejša in tako bolj zdrava od konvencionalne ter obratno. Take trditve s strani nekaterih drugih avtorjev označuje kot neprimerne, neresne in brez prave podlage zaradi omejenih znanstvenih podatkov in nenazadnje tudi iz etičnih vidikov.

Bernhoft s sodelavci (2010) je preiskoval povezave med agronomskimi in klimatskimi dejavniki in fuzarijskimi okužbami ter vsebnostmi mikotoksinov v žitih in ugotovil, da so bila ekološko pridelana žita na Norveškem manj obremenjena z mikotoksini kot pri konvencionalni pridelavi. Kot razlog za to navaja slabo kolobarjenje pri konvencionalnem pridelovanju, uporabo mineralnih gnojil in v neki meri uporabo FFS pri konvencionalni pridelavi. Nekatera FFS lahko celo povzročijo povečano produkcijo mikotoksinov pri glivah, ki so preživele škropljenje z njimi (učinek stresnega dejavnika). Vendar pa avtor sam navaja, da obstaja velik del razlike nepojasnen in ga pripisuje dejavnikom, ki jih v preiskavo niso zajeli (lokalni klimatski pogoji, specifične lastnosti posameznih sort v pridelovalnem sistemu itd.). Velika poraba dušičnih gnojil povečuje tveganje za poleganje žit in poleganje lahko povzroči povečanje vsebnosti mikotoksinov.

Med samimi avtorji raziskav razlik v stopnji trihotecenov med konvencionalnimi in ekološkimi načini pridelave žit prihaja do različnih rezultatov. Tako zasledimo mnogo

raziskav, kjer so dokazali, da so signifikantno manjše stopnje deoksinivalenola pri ekološki pridelavi v primerjavi s konvencionalnim pridelovanjem žit (Birzele s sod. 2002, Rossi s sod. 2006, Harcz s sod. 2007, Bernhoft s sod. 2010, Bernhoft s sod. 2012). V kontrast tem raziskavam pa je mnogo raziskovalcev (Vanova s sod. 2008, Champeil s sod. 2004, Hoogenboom s sod. 2008, Edwards 2009, Berleth s sod. 1998, Mäder s sod. 2007) odkrilo, da ni bilo signifikantnih razlik v vsebnosti mikotoksinov v zrnju med pridelovalnima sistemoma. Večje vsebnosti toksinov pri ekoloških pridelovalcih žit je ugotovil Malmauret s sodelavci (2002) in večjo stopnjo pojava fuzarioz klasa pri ekološki pridelavi Czajkowska s sodelavci (1999).

V raziskavi, predstavljeni s strani Schollenberger s sodelavci (2002), je bilo v moki, proizvedeni iz ekološko pridelanega zrnja, signifikantno manj DON kot v moki iz zrnja konvencionalne pridelave (120 µg/kg v primerjavi z 295 µg/kg). Podobne rezultate z manjšo vsebnostjo DON v moki ekološkega izvora v primerjavi z moko iz konvencionalne proizvodnje je dokazal Usleber s sodelavci (2000). V kontrast tej raziskavi pa Marx s sodelavci (1995) ni ugotovil signifikantnih razlik v vsebnosti DON pri ekološki in konvencionalni pridelavi, vsebnost DON je bila pri konvencionalni pridelavi celo nekoliko nižja od ekološke (486 µg/kg pri ekološki in 420 µg/kg pri konvencionalni).

Iz navedenih člankov lahko zasledimo, da so vremenske razmere med rastno dobo večinoma pogojevale majhen pritisk bolezni. Klimatske razmere med rastno dobo so zdaleč najpomembnejši dejavnik, ki vpliva na obseg okužb. Največje razlike v stopnji trihotecenov med samimi pridelovalnimi sistemi avtorji pripisujejo kolobarjenju in gnojenju. V vseh konvencionalnih pridelovalnih sistemih v teh državah (veliki poljedelski kompleksi narekujejo minimalno obdelavo in ozek kolobar – celo monokulturno pridelovanje) prihaja do občutno preozkega kolobarja, kar potem rezultira z določenimi razlikami v stopnji toksinov v primerjavi z ekološko pridelavo. Tudi sama poraba dušičnih gnojil je signifikantno višja pri konvencionalnih sistemih (zahtevani so čim večji pridelki na hektar s čim boljšo beljakovinsko kvaliteto). Pri raziskavah, kjer te razlike niso bile signifikantne, so kolobarje bolj široko zastavili in gnojenje izvedli na bolj natančne načine. Za omilitev slabih učinkov ozkega kolobarja in pregnojenja se nato uporabljajo FFS, kar

lahko v določenih pogojih vodi tudi v nastanek prekomernih količin toksinov (Bernhoft s sod. 2010, Bernhoft s sod. 2012).

Bernhoft s sodelavci (2012) pojasnjuje, da lahko v njegovih raziskavah višjo vsebnost fuzarijskih mikotoksinov pri konvencionalni pridelavi žit razložimo z uporabo FFS in mineralnih gnojil, kolobarjenjem, obdelavo tal, gostoto posevka, pšeničnim kultivarjem in nenazadnje s samimi klimatskimi razmerami. Obenem pa navaja, da so zaznali signifikantno manjše pridelke pri ekološki pridelavi, kar je tudi potrebno upoštevati. Avtor navaja, da lahko finančno izgubo zaradi manjšega pridelka nadoknadijo z višjo odkupno ceno.

Tudi Vanova s sodelavci (2008) navaja, da lahko iz njenih raziskav pri ekološki pridelavi pričakujejo do največ 70 % količine zrnja kot pri konvencionalni pridelavi.

Zanimivo raziskavo glede primerjave štirih različnih pridelovalnih sistemov na vsebnost DON v treh preučevanih letih je objavil Champeil s sodelavci (2004), rezultati so prikazani v preglednici 1.

Preglednica 1: Primerjava vsebnosti DON in prisotnosti boleznih med štirimi različnimi pridelovalnimi sistemi v treh preučevanih letih (Champeil s sod. 2004)

Table 1: Comparison of DON content and the presence of disease between four different cultivation systems in the three years study (Champeil et al. 2004)

Pridelovalni sistem	Zasnova	2000	2001	2002
	poskusa	µg/kg DON	µg/kg DON	µg/kg DON
Konvencionalni sistem	I	1230 (24 %)	120 (0 %)	150 (3 %)
	II	860 (23 %)	Nz (0 %)	380 (1 %)
Integrirana pridelava	I	430 (6 %)	Nz (0 %)	Nz (0 %)
	II	270 (8 %)	Nz (0 %)	280 (0 %)
Neposredna setev	I	7420 (34 %)	Nz (-)	400 (1 %)
	II	9100 (38 %)	Nz (-)	600 (0 %)
Ekološka pridelava	I	230 (5 %)	430 (0 %)	100 (0 %)
	II	350 (22 %)	370 (0 %)	110 (0 %)
SORTA CHARGER BREZ FUNGICIDOV				
Konvencionalni sistem	I	490 (63 %)	Nz (0 %)	310 (4 %)
	II	530 (22 %)	60 (0 %)	340 (1 %)
Integrirana pridelava	I	530 (28 %)	Nz (0 %)	310 (2 %)
	II	320 (17 %)	10(0 %)	340 (2 %)
Neposredna setev	I	4230 (47 %)	-	800 (5 %)
	II	8220 (23 %)	-	1100 (3 %)
Ekološka pridelava	I	370 (2 %)	1120 (0 %)	600(5 %)
	II	670 (1 %)	1020 (0 %)	600 (3 %)

Nz-vrednosti niso bile zaznavne (meja detekcije je bila 30 µg/kg), vrednosti v oklepajih predstavljajo odstotek prisotnosti boleznih

V treh letih sta se škropljenje s fungicidi in predhodni posevek pri vseh postopkih vsako leto spreminjala. V letih 1999–2000 so uporabili strobilurinske pripravke, 2000–2001 in 2001–2002 pa kombinacijo strobilurinskih in triazolovskih pripravkov. Zaradi oteženih pogojev pri neposredni setvi v letu 2000 in posledično zelo slabem vzniku v tistem letu niso vzeli vzorcev pšenice iz sistema z direktno setvijo. Podrobnejše razlage zasnove poskusa lahko najdemo v opisani raziskavi Champeil s sodelavci (2004). Rezultati raziskave potrjujejo dejstvo, da pogostost bolezni v največji meri pogojujejo klimatski pogoji, vendar pa ima v letih s srednjim in močnim pritiskom bolezni tudi pridelovalni sistem vpliv na pogostost okužb. V letu 2000 je bil pritisk bolezni zelo močan, kar prikazujejo tudi podatki iz preglednice 1. Neposredna setev je rezultirala z največjimi vsebnostmi DON (predposevek koruza), kar potrjuje dejstvo, da koruza kot predposevek ob nezaoravanju ostankov lahko zelo poveča stopnjo toksinov (Dill-Macky in Jones 2000). V letu 2000 je konvencionalna pridelava rezultirala z večjo vsebnostjo DON kot ekološka ter obratno v letih 2001 in 2002. Povečana stopnja v letu 2000 pri konvencionalni pridelavi je lahko nastala zaradi rabe neprimerne fungicida. Za strobilurinske pripravke je znano, da ne delujejo dovolj učinkovito na fuzarioze, uničijo pa večino ostalih konkurenčnih gliv, prisotnih na žitu, in tako ima fuzarijski micelij večjo sposobnost razvoja, ker je izključena konkurenca saprofitov. V letih 2001 in 2002 se je uporabila kombinacija strobilurinskih in triazolovskih pripravkov. Zrnje iz integrirane pridelave je v vseh letih izkazovalo najmanjšo stopnjo vsebnosti toksinov. Rezultati kažejo, da je imela neposredna setev v vseh preučevanih letih največje vsebnosti toksinov v primerjavi z ostalimi sistemi. Zanimivi so tudi izsledki pri ekološki pridelavi v letu 2001, kjer so pri sorti Charger ugotovili vrednosti nad 1000 µg/kg DON pri 0-odstotni stopnji vizualno ocenjenih znamenj prisotnosti bolezni, kar nam potrjuje hipotezo, da verjetno obstajajo sorte, ki lahko kljub odsotnosti vizualnih znamenj prisotnosti fuzarioze klasa rezultirajo z velikimi količinami toksinov (Champeil s sod. 2004).

Obilice natančnih raziskav s primerjavami med integriranimi načini pridelave poljščin in ekološkimi nismo našli med znanstvenimi članki. Integrirana pridelava ponuja bolj kontroliran, naravi prijaznejši način kmetovanja, ki temelji na manjši porabi naravnih virov in hoče zagotavljati največji možni pridelek z najvišjo kvaliteto z omejeno uporabo gnojil

in pesticidov. Uporaba kolobarja je strogo obvezna, prav tako je reguliran vnos organskih in mineralnih gnojil ter uporabe FFS. Večina dejavnikov, ki po mnenju Bernhofta s sodelavci (2012) povzročata večjo vsebnost mikotoksinov pri konvencionalni pridelavi, je pri integrirani pridelavi kontroliranih in zmanjšanih na minimum.

Tako bi lahko sklepali, da pri rezultatih primerjave vsebnosti trihotecenov med integrirano in ekološko pridelavo ne bo statistično pomembnih razlik kljub pričakovanemu večjemu pridelku zrnja pri integrirani pridelavi. Nekateri podatki takšnega sklepanja lahko najdemo tudi v raziskavi Blandino s sodelavci (2012), kjer so ugotovili, da je 97-odstotno stopnjo redukcije mikotoksinov možno doseči s kombinacijo agrotehničnih ukrepov oranja, uporabe na fuzarioze srednje tolerantne sorte in ob aplikaciji triazolov (lahko primerjamo s simulacijo integrirane pridelave) v primerjavi z direktno setvijo, uporabo na fuzarioze občutljivo sorto in neškropljenjem (simulacija konvencionalne pridelave brez škropljenja) oziroma 48 % v primerjavi z direktno setvijo, uporabo na fuzarioze občutljive sorte in ob uporabi triazolov (simulacija konvencionalne pridelave). Sam vpliv odpornosti sorte je bil statistično pomemben v letih z majhnim in srednjim pritiskom bolezni, medtem ko v letu z močnim pritiskom niso opazili statistično pomembnih razlik med občutljivo in srednje tolerantno sorto. Iz tega lahko sklepamo, da ekološko kmetovanje, ki temelji na uporabi čim bolj tolerantnih sort, v letih, primernih za razvoj bolezni, nima ustrezne možnosti, da bi popolnoma preprečilo pojav mikotoksinov. Zdaleč največji učinek na pridelok in stopnjo mikotoksinov je pokazala aplikacija triazolov. V letih, kjer je bil manjši pritisk bolezni, ni bilo tako ogromnih razlik med pridelovalnimi sistemi in ukrepi, iz česar lahko sklepamo, da v letih, kadar ni velikega pritiska fuzarioz, ne pričakujemo statistično pomembnih razlik med ekološkim in integriranim pridelovanjem, obratno pa v letih, kjer je večji pritisk bolezni, lahko pričakujemo večjo prisotnost toksinov v ekološkem zrnju (Champeil s sod. 2004).

2.10.2 Primerjava vsebnosti trihotecenskih mikotoksinov v moki, proizvedeni na industrijski način, in v moki, proizvedeni po tradicionalnih neindustrijskih metodah mletja

Mnogo raziskovalcev je raziskovalo distribucije in vsebnosti trihotecenskih toksinov v moki. Učinki, ki jih ima sam postopek mletja na distribucijo mikotoksinov, so podrobneje predstavljeni na straneh 37–39. Povzemamo samo rezultate nekaterih raziskav:

Preglednica 2: Rezultati nekaterih raziskav glede primerjave načinov mletja na vsebnosti DON v moki

Table 2: Results of some studies on concerning the effect of milling on DON content in flour

Raziskovalec	Način mletja	DON v zrnju	DON v moki
Thammawong s sod. (2011)	Industrijski način (simulacija v laboratoriju)		130 µg/kg
			860 µg/kg
			4690 µg/kg
Thammawong s sod. (2010)	Industrijski način (simulacija v laboratoriju)	896 µg/kg	860 µg/kg
Abbas s sod. (1985)	Industrijski način	7900–9500 µg/kg	1100–3100 µg/kg
Visconti s sod. (2004)	Industrijski način (simulacija v laboratoriju)	350–13.400 µg/kg	190–6370 µg/kg
Roming in Avram (2010)	Industrijski način (simulacija v laboratoriju)	1111 µg/kg	780 µg/kg
Trigo-Stockli s sod., (1996)	Industrijski način (simulacija v laboratoriju)	2800 µg/kg	1500 µg/kg
Rios s sod. (2009)	Polindustrijski način (simulacija v laboratoriju)		382 µg/kg
			220 µg/kg
Palpacelli s sod. (2007)	Tradicionalno mletje s kamnom Industrijsko mletje (simulacija v laboratoriju)	DON ni bil določen	170 µg/kg
			370 µg/kg

Učinek industrijskega mletja na porazdelitev toksinov pri moki je vsaj navidezno relativno dobro poznan (Thammawong s sod. 2011, Thammawong s sod. 2010, Abbas s sod. 1985, Visconti s sod. 2004, Roming in Avram 2010, Trigo-Stockli s sod. 1996, Rios s sod. 2009, Palpacelli s sod. 2007), vendar še zdaleč ne popolnoma pojasnjen. Ne povzroča direktnega odstranjevanja toksinov, ampak njegovo frakcioniranost po različnih mlevskih produktih. Sama frakcioniranost DON in učinkovitost čiščenja se lahko drastično spreminjata. Količine toksinov praviloma naraščajo s tipom moke, ki vsebuje več zunanjih delcev zrnja. Ponovimo dejstvo, da je DON prisoten po celotnem zrnju, vendar v največjih količinah v zunanjih delih zrnja.

V zadnjem času je zelo popularna uporaba raznih mlinčkov za mletje žit v polnozrnato moko, katerih vpliv na deoksinivalenol in zadrževanje stopnje DON v moki še ni bil temeljito raziskan (ustni vir). Ker gre tu za uporabo celotnega zrnja, lahko sklepamo, da celotna količina DON ostane v moki in se njegova biotransformacija prične šele v nadaljnjih postopkih procesiranja moke. Pri takšni pripravi polnozrnatih mok je vsebnost mikotoksinov v moki povsem odvisna od vsebnosti le-teh v zrnju. V določenih letih je lahko zrnje z uporabo domačih mlinčkov povsem primerno za tako uporabo, v letih z intenzivnimi okužbami pa je lahko uporaba tvegana. V literaturi ob našem pregledu nismo našli člankov, ki bi obravnavali to tematiko.

Zanimiva je raziskava Palpacelli s sodelavci (2007), ki je ob enakem vhodnem materialu ugotovil večjo stopnjo redukcije toksinov pri mletju z mlevskim kamnom. Avtor te zanimive rezultate pojasnjuje z večjo stopnjo odstranitve zunanjih delov pri uporabi mlevskega kamna ter uporabi redukcijskih valjev pri industrijskem mletju, ki služijo za ekstrakcijo vse možne moke iz otrobov. Žal avtor v članku ni predstavil izhodiščne vsebnosti mikotoksinov, da bi se lahko določila stopnja redukcije pri obeh načinih mletja.

2.10.3 Primerjava vsebnosti trihotecenskih mikotoksonov v industrijskih proizvodih iz krušnih žit z vsebnostjo v proizvodih iz neindustrijske proizvodnje

Zanimivo raziskavo s tega področja je izvedel Tanaka s sodelavci (2010), ki je primerjal vsebnost toksinov v piškotih za odrasle in otroke. Ugotovili so, da so piškoti vsebovali širok spekter fuzarijskih toksinov (DON, NIV, HT, HT2, ZEN) vendar se vsebnosti pri obeh vrstah niso statistično razlikovale. Zdaleč največjo prisotnost v piškotih je izkazoval DON (98 % pozitivnih vzorcev pri piškotih za odrasle in 89 % pozitivnih pri otroški hrani, n=201).

Za nas mnogo pomembnejše podatke pa je zbrala in predstavila Schollenberger s sodelavci (1999), ki je v letih 1998 preučevala vsebnosti mikotoksinov v žitnih proizvodih na območju jugozahodne Nemčije. Zbrane podatke zaradi preglednosti predstavljamo v preglednici 3.

Preglednica 3: Nekateri fuzarijski toksini v žitnih proizvodih z območja jugozahodne Nemčije (Schollenberger s sod. 1999)

Table 3: Some Fusarium toxins in wheat products from the region of Southwest Germany (Schollenberger et al. 1999)

Tip hrane	Mikotoksin	% pozitivnih vzorcev	Toksini v pozitivnih vzorcih (µg/kg)		
			Razpon	Povprečje	Mediana*
Kruh in sorodni proizvodi	DON	83	15–788	92±102	62 ^a
	NIV	2	67–169	118±51	
Rezanci	DON	93	15–1670	158±334	62 ^{ac}
	NIV	3	52	52	
Žitarice za zajtrk	DON	56	15–238	75±72	53 ^{ac}
	NIV	0			
Hrana za dojenčke in otroke	DON	60	15–314	61±86	23 ^{bc}
	NIV	0			
Riž	DON	54	15–305	107±109	35 ^{ac}
	NIV	0			
Ostala hrana	DON	52	15–505	138±159	92 ^{ac}
	NIV	7	25–231	128	

*Vrednosti znotraj stolpca, ki nimajo enakih črk, se signifikantno razlikujejo med skupinami ($P < 0,05$)

Rezultati raziskave dokazujejo, da je v tistem obdobju na tistem območju industrijsko pridelana hrana ustrezala predpisom in ni predstavljala nevarnosti za potrošnika. Posebej negativno odstopa en vzorec rezancev z vrednostjo 1670 µg/kg, vendar je bilo povprečje vseh odvzetih vzorcev (n=29) daleč pod zakonsko določeno mejo. Podobno so nakazali podatki raziskave različnih skupin kruha, ki ga je izvedla Schollenberger s sodelavci (2005), kjer se je dokazalo, da je bil v letu 1999 maksimalno dovoljen vnos 1 µg/kg telesne teže DON na dan povsem ustrezen in ni bil prekoračen. DON so zaznali v 92 % vzorcev in NIV v 5 %, mediana je bila 134 µg/kg in 25 µg/kg. V vzorcih kruha iz ekoloških žit so bile vrednosti DON in NIV signifikantno nižje kot iz drugih vrst pridelave.

González-Osnaya s sodelavci (2011) so opravili raziskavo o vsebnosti trihotecenov (DON, T2) v kruhu in testeninah, dostopnih v Španiji. V raziskavo so zajeli 75 vzorcev iz supermarketov ter njihovih tradicionalnih pekarn. DON so zaznali v 28 % vzorcev kruhov in 62,6 % testenin v povprečni vsebnosti 42,5 µg/kg ter 137,1 µg/kg. Noben od vzorcev ni presegel zakonsko določene meje (500 µg/kg za kruh in 750 µg/kg za testenine). Rezultate raziskav niso predstavljali ločeno za različne tipe izvora kruha in testenin (domače pekarnice ali industrijske). Nekoliko večje stopnje toksina v testeninah ne predstavljajo težave, ker samo približno 25 % vsebnosti DON ostane v testeninah po kuhanju (Abecassis in Feillet 2003).

Harcz s sodelavci (2007) je ocenil, da so v njihovi projekciji potrošniki v Belgiji zaužili 0,56 µg/kg telesne teže DON na dan (56 % maksimalno dovoljenega dnevnega vnosa) pri uživanju ekoloških živil ter 0,99 µg/kg telesne teže DON na dan (99 % maksimalno priporočenega dnevnega vnosa) pri uživanju konvencionalnih živil. Navedeni podatki izražajo projekcijo vrednosti, ki bi bila po mnenju avtorja mogoča, če bi vrednosti toksinov iz nepredelanega zrnja ostale enake vse do konzumacije živil. Iz rezultatov mnogih drugih raziskav, zajetih v tej disertaciji, pa vemo, da v postopku priprave živil prihaja do različnih stopenj zmanjševanja vsebnosti toksina DON.

Nadaljevanje raziskave Malmauret s sodelavci (2002) je opravil Leblanc s sodelavci (2002), ki je izvedel simulacijo izpostavljenosti francoskih potrošnikov DON iz ekološke in konvencionalne hrane. V zaključkih raziskave je ocenjeno, da okoli 10 % potrošnikov ekološko pridelane hrane tvega dnevno prekoračitev dovoljene meje vnosa DON.

Primerjave različnih proizvodov iz pšenice ter njihove vsebnosti DON prikazujemo v preglednici 4.

Preglednica 4: Pojav DON v različnih žitnih proizvodih (Codex Committee on Contaminants in Food 2010)

Table 4: Occurrence of DON in different groups of wheat products (Codex Committee on Contaminants in Food 2010)

Blago	Regija	Število vzorcev	Povp. µg/kg	Mediana µg/kg	Maks. µg/kg	Viri
Kruh						
	Azija	8	20		78	Ok s sod. (2009)
	Azija	30	62		1130	Poapolathep s sod. (2008)
	Evropa	4	<100			Vendl s sod. (2010) Cano-Sancho s sod. (2011)
	Evropa	41	246	242	739	
	Evropa	75			147	González s sod. (2011)
Francoski	Južna Amerika	12	263	294	436	Pacin s sod. (1997)
Francoski	Južna Amerika	66	41,6	35,5	271	Pacin s sod. (2010)
Dunajski	Južna Amerika	45	30,1	22	149	Pacin s sod. (2010)
	Severna Amerika	3			400	Trucksess s sod. (2010)
Testenine ali rezanci						
	Azija	30	4,3		350	Poapolathep s sod. (2008)
	Evropa	4	nd			Vendl s sod. (2010)
	Evropa	75			623	González s sod. (2011) Schollenberger s sod. (1999)
	Evropa Severna Amerika	29	158	62	1670	
		2			100	Trucksess s sod. (2010)
Žitni proizvodi						
Žitarice za zajtrk	Evropa	32	75	53	238	Schollenberger s sod. (1999)
Žitarice za zajtrk	Evropa	27	130	157	437	Cano-Sancho s sod. (2011)
Žitarice za zajtrk	Severna Amerika	4			400	Trucksess s sod. (2010)
Žitarice za zajtrk	Severna Amerika	29	110		940	Roscoe s sod. (2008)
	Severna Amerika				400	
Slano pecivo	Severna Amerika	4				Trucksess s sod. (2010)
	Severna Amerika				1200	
Preste	Amerika	7				Trucksess s sod. (2010)
Piškoti	Azija	8	9		35	Ok s sod. (2009)
Piškoti	Azija	70	23		791	Tanaka s sod. (2010)

Nekih natančnejših raziskav glede primerjav vsebnosti trihotecenov med ekološkimi in konvencionalnimi proizvodi ni, kar kaže na potrebo po tovrstnih raziskavah. Obstoječi

rezultati raziskav kažejo na protislovja, kar nam splošne ocene stanja varnosti ekološko pridelanih živil ne omogoča. Kar nekatere raziskave opisujejo kot tradicionalno pripravo hrane, bi mogoče na prvi pogled lahko smatrali kot ekološko pripravo, vendar gre tukaj za ogromne kulturno-etične razlike, ki z ekološko pridelavo hrane v Evropi nimajo povezav. Konzumacija ekoloških živil se bo verjetno povečevala in bo potreba po natančnejših podatkih o toksinih v njej postala nujna zahteva potrošnikov. Nekateri so v njihovih raziskavah prišli do zaključkov, da zahteve potrošnikov po povsem ekoloških pristopih pri pridelavi živeža in predelavi hrane lahko vodijo do neželenih učinkov glede varnosti hrane (Zink 1997).

2.11 Klimatske spremembe in mikotoksini

Glive, ki tvorijo mikotoksine, so razširjene skoraj po vsem svetu in za večino velja, da najbolje uspevajo v krajih s toplo in vlažno klimo, vendar so seveda izjeme, ki uspevajo v izredno vročih ali mrzlih krajih ter v krajih z skoraj nič vlage. Tako npr. *F. graminearum* najbolje uspeva v krajih z zmerno toplo klimo (25 °C, 88 % vlažnost zraka), *F. culmorum* pa v rahlo hladnejših, severnejših delih sveta (21 °C, 87 % vlažnost zraka) (Canadys sod. 2001). Na podlagi teh informacij, bi lahko klimatske spremembe signifikantno vplivale na okužbe, razvoj, tip in količine mikotoksinov (Chakraborty s sod. 1998).

Mikotoksini so klimatsko pogojeni preko celotnega procesa njihovega nastanka, in tako je klima najpomembnejši dejavnik v glivičnih okužbah in produkciji mikotoksinov (Magana s sod. 2003). V toplih krajih lahko spremembe teoretično povzročijo celo izumrtje določenih gliv, tudi tvork mikotoksinov, kar je lahko tudi nepričakovana pozitivna posledica klimatskih sprememb (Russell s sod. 2010).

Napovedovanje vpliva klimatskih sprememb na mikotoksine spremlja relativno velika nenatančnost, ker je preprosto prevelik nabor dejavnikov, ki jih je potrebno upoštevati (European Commission 2007). Ocenjujemo, da v bližnji prihodnosti te spremembe ne bodo

bistveno vplivale na fuzarijske toksine v Sloveniji. Dolgoročne napovedi sicer kažejo večje učinke klimatskih sprememb za območje Slovenije (European Commission 2007), podrobneje pa se ne bi spuščali v to tematiko.

Preglednica 5: Optimalne temperature za rast in tvorbo nekaterih gliv ter mikotoksinov
(Sanchis in Magan 2004, cit. po Paterson in Lima 2010)

Table 5: Optimal temperatures for growth and the formation of some fungi and mycotoxins
(Sanchis and Magan 2004)

	Mikotoksini			
	Aflatoksini	Fumonizni	Deoksinivalenol	Ohratoksin A
Najpogostejše mikotoksingene glive	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Fusarium verticillioides</i> , <i>Fusarium proliferatum</i> , <i>Fusarium moniliforme</i>	<i>Fusarium culmorum</i> , <i>Fusarium graminearum</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Penicillium verrucosum</i>
Optimalna temperatura za tvorbo mikotoksinov	33 °C	15–30 °C	30–26 °C	25–30 °C

3 MATERIAL IN METODE DELA

3.1 Zasnova in postopek poskusa za določanje povezave med vizualno ovrednoteno stopnjo okužbe različnih sort pšenice v poljskem poskusu v odvisnosti od lokacije in načina varstva pred boleznimi in vpliva le-tega na vsebnost mikotoksinov v zrnju pred in po zaključenem čiščenju zrnja

V sezoni 2008 smo opravili dva poljska poskusa, na dveh lokacijah v osrednjem (Jablje) in vzhodnem delu Slovenije (Maribor) s štirimi sortami ozimne pšenice, gojenimi na majhnih parcelah (10 m²), urejenih po sistemu naključnih blokov s štirimi ponovitvami. Poskusi so se izvedli v okviru standardnih sortnih mikroposkusov, ki jih izvaja Kmetijski inštitut Slovenije v vsakoletnem programu preizkušanja sort. V poskus smo vključili sorte z različnim odzivom na okužbe s fuzariozami. Glede na informacije, dobljene v več poskusih glede primerjave sort, so ugotovili, da je sorta Incisif občutljiva na fuzarioze klasov (FHB), Super žitarka je srednje občutljiva, Renan srednje tolerantna in sorta Bastide tolerantna (posvet s strokovnjaki Kmetijskega inštituta Slovenije). Parcelice smo med rastno dobo umetno okužili s trosi gliv iz rodu *Fusarium*. Metodika umetnega okuževanja je obrazložena v podpoglavju 3.1.1.

Pridelek zrnja smo izmerili po žetvi poskusov z Wintersteiger kombajnom v polni zrelosti. Stroj smo nastavili na standardno kvaliteto čiščenja. Z individualnih poskusnih parcelic smo požeto pšenico spravili v papirnate vrečke in jo pozneje strojno očistili. Pred in po čiščenju smo odvzeli vzorce pšenice za analize mikotoksinov iz vsake vrečke, da bi dobili informacije o začetni vsebnosti mikotoksinov ob žetvi ter o vsebnosti po čiščenju in ločevanju v posamezne frakcije. Kar se dotika obdelave tal, setve ter osnovnega gnojenja je bila agrotehnika enaka za vse parcelice in v skladu s standardom integrirane pridelave žit. Razlika med parcelicami je bila le v tem, da smo jih polovico pred boleznimi varovali s fungicidi ter dognojevali z dušikom, druga polovica pa je bila brez uporabe fungicidov in brez dognojevanja z dušikom (pridelava brez uporabe fungicidov), kar je podrobneje

obrazloženo v podpoglavju 3.1.2. Na obeh lokacijah je bila predposevek koruza. Na lokaciji Jablje smo pšenico posejali 18. 10. 2007, ki je vznikla 2. 11. 2007. Predsetveno gnojenje smo izvedli na vseh parcelicah s 400 kg NPK 7 : 20 : 30 (enako na parcelicah z integrirano ter pridelavo brez uporabe fungicidov). Povprečna gostota setve je bila 470–530 rastlin na m² (410–430 klaskov na m²). Dušikova gnojila za dognojevanje smo dodali dvakrat v rastni dobi pri parcelicah z integrirano pridelavo. Prvič smo dognojili 21. 3. 2008 z 250 kg KAN 27 %/ha (67,5 kg N/ha) in drugič 29. 4. 2008 z 200 kg KAN 27 %/ha (54 kg N/ha). Parcelice z oznako brez uporabe fungicidov nismo dognojevali z dušikovimi gnojili. Herbicid smo uporabili samo na parcelicah z integrirano pridelavo, in sicer Hussar OD 1 l/ha (10 % jodosulfuron metil natrij) 4. 4. 2008. Insekticid smo prav tako uporabili samo na parcelah z integrirano pridelavo. Uporabili smo pripravek Karate Zeon 5 CS (5 % lambda-cihalotrin), aplicirali smo ga v sredini faze klasenje (BBCH 43) skupaj s prvo aplikacijo fungicida (podpoglavje 3.1.2). Žetev vseh parcelic na lokaciji Jablje smo izvedli 30. 7. 2008.

Na lokaciji Maribor smo 24. 10. 2007 izvedli osnovno gnojenje z 500 kg NPK/ha (enako na integriranih parcelicah ter parcelah brez uporabe fungicidov). Pšenice smo posejali 6. 11. 2007, vznik smo opazili 24. 11. 2007. Povprečna gostota setve je bila 470–530 rastlin na m² (410–430 klaskov na m²). Dušikova gnojila za dognojevanje smo dodali trikrat v rastni dobi pri parcelicah z oznako integrirana pridelava. Prvič smo dognojili 12. 3. 2008, drugič 19. 4. 2008 in tretjič 7. 6. 2008, v vseh terminih smo uporabili 150 kg KAN 27 %/ha (40,5 kg N/ha). 10. 3. 2008 smo samo na parcelicah z oznako integrirana pridelava uporabili herbicid Lintur 70 WG (65,9 % dikamba + 4,1 % triasulfuron) 0,18kg/ha. Na istih parcelicah smo 7. 5. 2008 za zatiranje škodljivcev uporabili insekticid Fastac 100 EC (10 % alfa cipermetrin) 0,11/ha. Na parcelicah z oznako »brez uporabe fungicidov« nismo uporabili herbicida in insekticida, prav tako tam nismo izvajali dognojevanja z dušikovimi gnojili. Žetev vseh parcelic na Lokaciji Maribor smo izvedli 29. 7. 2008.

3.1.1 Okuževanje pšenice s trosi gliv in ocena stopnje okuženosti klasov

Vse žitne poskuse smo inokulirali s sporami med cvetenjem, ko je 80 % rastlin cvetelo v razvojni fazi BBCH 63–65. Fungicide za zatiranje fuzarioz smo aplicirali 24 ur pred inokulacijo rastlin, ki smo jo izvedli s konidiji dveh izolatov gliv; *F. culmorum* (W. G. Sm.) Sacc. KIS 722/07 in *F. graminearum* Schwabe KIS1220/08) in sta v hrambi na Kmetijskem inštitutu Slovenije. Škropili smo s suspenzijo, ki je vsebovala približno 2000 konidijev na mililiter škropilne tekočine. Konidije smo pridobili v petrijevkah po standardnem protokolu, ki ga je opisal Nirenberg (1976) in so ga izvedli na Kmetijskem inštitutu Slovenije. Glive so inkubirali 10 dni pri temperaturi 20 °C s svetlobnim ciklom 12 ur svetlobe in 12 ur teme. Poskuse smo škropili s poskusno škropilnico z elektromotorčkom (Fox Motori F200 Electra, uporabljena šoba Teejet 800067), ki ima porabo 350 l/ha in je delovala pri konstantnem tlaku tri bare. Škropili smo po mokrih rastlinah po koncu dežja, v popoldanskih urah. Dodatno smo uporabili še metodo raztrosa okuženih klasov po površju zemlje na poskusnih parcelicah. Okužene klase so nabrali eno sezono pred našim poskusom po različnih lokacijah v Sloveniji. Bili so skladiščeni pod naravnimi pogoji, viseči v vrečah pod streho. V sredini aprila smo klaske za tri dni namakali v vodo in potem skladiščili pri 25 °C. Plesnive klase smo raztrosili po vseh poskusih (20 g/m²) proti koncu faze klasenja tako, da so bile rastline pšenice najbrž okužene tudi z večimi nedoločenimi lokalnimi sevi fuzarijskih gliv. Ocenjevanje prisotnosti bolezni – stopnje okuženosti klasa (% FHB) je sledilo pet tednov po inokulaciji (BBCH 77). Bolezen smo ocenili z vizualno oceno na 300 naključno izbranih klasih na vsaki parcelici, ocenili smo delež površine klasa, okužen s fuzariozami. Za oceno smo uporabljali 13-stopenjsko vizualno skalo za ocenjevanje, ki jo je zasnovala Engle s sodelavci (2003). Od začetka cvetenja do polne zrelosti je dež padal 6-krat, rastline so bile večkrat omočene za daljšo časovno obdobje. Vremenski pogoji so bili naklonjeni razvoju fuzarioz (preglednica 6). Razvoj drugih gliv (pepelovka, rja, itd.) v poskusih ni bil intenziven.

Preglednica 6: Vremenske razmere (temperatura in padavine) med rastno dobo za območje
Brnik – letališče in Maribor – letališče (ARSO 2007, ARSO 2008)

Table 6: Weather conditions (temperature and precipitation) during the growing season for
the area of Brnik – airport and Maribor Maribor –airport (ARSO 2007, ARSO
2008)

		2007		2008						
		NOV	DEC	JAN	FEB	MAR	APR	MAJ	JUN	JUL
BRNIK LETALIŠČE	POV. °C	3,3	-1,2	0,9	2	4,3	8,9	15,9	19,2	19,2
	VP (mm)	36	48	72	34	132	126	86	188	279
MARIBOR LETALIŠČE	POV. °C	4,5	-0,7	2,8	3,8	6,1	10,5	17	19,7	20,6
	VP (mm)	32	54	2	28	106	44	73	148	144

Legenda: POV. °C – povprečna temperatura zraka, VP – višina padavin

3.1.2 Aplikacija fungicidov

Fungicide smo aplicirali dvakrat s poskusno škropilnico Fox Motori F200 Electra s šobo Teejet 800067 (poraba 350 l škropilne brozge/ha). Prvo aplikacijo smo izvedli v sredini faze klasenja (BBCH 43), tri tedne pred cvetenjem, in drugo med cvetenjem (BBCH 63–65), 24 ur pred inokulacijo s sporami. Prvo aplikacijo (1AP) smo izvedli za kontrolo žitne pepelovke, pšenične listne pegavosti in rje, ter drugo aplikacijo (2AP) za preprečevanje okužbe pšenice s fuzarijskimi glivami med cvetenjem. V Jabljah smo za 1AP uporabili 0,75 l/ha Amistar Extra (20 % azoksistrobin + 8 % ciprokonazol; Syngenta Agro) ter 2AP 0,8 l/ha Prosaro (12,5 % protiokonazol + 12,5 % tebukonazol; Bayer AG). Na lokaciji Maribor smo za 1AP uporabili 1,3 l/ha Opus Team (8,4 % epoksikonazol + 25 % fenpropimorf; BASF) ter 2AP 0,6 l/ha Falcon (25 % spiroksamin + 16,7 % tebukonazol + 4,5 % triadimenol; Bayer AG). Polovico poskusnih parcelic smo škropili, polovice pa ne (pridelava brez uporabe fungicidov).

3.1.3 Postopek čiščenja zrnja

Čiščenje zrnja smo izvedli z visoko kvalitetnim čistilcem vzorcev zrnja Pfeuffer SLN (Pfeuffer GmbH, Kitzingen, Germany), ki ga pri vrednotenju poskusov uporabljajo na Kmetijskem inštitutu Slovenije, na poskusni postaji Jablje. Ta odstrani vse nečistoče in loči zrnje v velikostne razrede, glede na vgrajena sita s podolžnimi zarezami. Z uporabo tega stroja smo poskušali posnemati postopke industrijskega čiščenja zrnja. Požeto zrnje iz različnih variant poskusa smo razdelili v štiri velikostne frakcije; nad 2,4 mm, 2,2–2,4 mm, 1,8–2,2 mm ter pod 1,8 mm. Te frakcije smo izbrali glede na običajne prakse v mlevski industriji. Po ločevanju smo vsako frakcijo stehali ter izračunali delež vsake frakcije glede na požeto količino. Iz vsake frakcije smo odvzeli vzorec za vizualno določanje stopnje okužbe zrnja s fuzariozami. Zrnje individualnih frakcij smo zapakirali in poslali laboratoriju za določevanje mikotoksinov. Postopek določevanja mikotoksinov je podrobneje opisan v poglavju 3.2.4.

3.1.4 Vizualna ocena stopnje okužbe zrnja pred in po čiščenju

Iz vsake individualne vreče s posameznih parcelic smo odvzeli vzorce pred in po čiščenju za oceno vizualne prisotnosti ali odsotnosti simptomov – znamenj okužb z glivami *Fusarium* spp. V tej raziskavi smo se odločili za uporabo izraza znamenja, čeprav vemo, da pri opazovanju okuženih zrn opazujemo spremembe, ki jih lahko imenuje simptomi ali znamenja bolezni. Frakcije semen z različnimi znamenji okužb s fuzariozami smo ločili z uporabo stereo lupe (20-kratna povečava). 300 zrn smo izbrali po sistemu naključnega izbora iz vsake vreče zrnja pred čiščenjem ter iz individualnih frakcij po čiščenju. Zrna smo vizualno ocenili z ocenami od 1 do 4, pri čemer je 1 pomenilo zdravo zrnje brez vseh vidnih simptomov okužb, 2 je pomenilo spremembe barve zrnja, vendar nespremenjena oblika in velikost zrna, 3 je pomenilo spremembe barve in zmerne spremembe v obliki in velikosti zrna ter ocena 4 je označevala izmaličena zrna, ki so bila zelo deformirana zaradi okužbe in so imela značilno rožnato obarvanje. Semena posameznih frakcij smo prešteli in

stehtali. Iz velikostne frakcije $>2,4$ in vizualne ocene vzorca 1 (brez simptomov) smo zatehtali 100 gramov vzorca, vsak tak vzorec smo analizirali na mikotoksine. Metodo dela smo povzeli po sistemu dela, ki sta ga opisala Sinha in Savard (1997).

3.1.5 Statistične metode, uporabljene pri poskusu za določanje povezave med vizualno ovrednoteno stopnjo okužbe različnih sort pšenice v poljskem poskusu v odvisnosti od načina varstva pred boleznimi in vpliva le-tega na vsebnost mikotoksinov v zrnju pred in po zaključenem čiščenju zrnja

Poljski poskus smo zasnovali kot poskus z dvema dejavnikoma (sorta, škropilni program) in z razporeditvijo parcelic v naključnih blokih v petih ponovitvah. Izvedli smo analizo variance. Za vrednotenje statističnih razlik med variantami smo uporabili Tukey HSD-test ($P < 0,05$) ter t-test ($P < 0,05$).

3.2 Zasnova poskusa za določanje zmanjševanja vsebnosti mikotoksinov med peko kruha

Pri tem poskusu smo uporabili pšenično zrnje sorte Isengrain iz integrirane pridelave brez uporabe fungicidov. Zrnje smo pridelali v sortnem poskusu na lokaciji Maribor, metodika pridelave je podrobno opisana v poglavju 3.1. Zrnje, uporabljeno za poskus (sorta Isengrain), smo pred predelavo za poskus skladiščili osem mesecev. Pred začetkom poskusa smo poslali na določitev vsebnosti trihotecenov v zrnju z HPLC-UV-analizo. Stopnje DON so se v povprečju gibale med $1400 \mu\text{g/kg}$ in $1900 \mu\text{g/kg}$ v nepredelanem zrnju in NIV med $130 \mu\text{g/kg}$ in $200 \mu\text{g/kg}$. Zasedili smo tudi nekaj vzorcev z izrazito nadpovprečnimi vrednostmi DON in NIV. Vlažnost zrnja smo izmerili, znašala je 13,2 %. Pred čiščenjem zrnja smo določili vidne simptome fuzarijskih okužb (rdečkasto obarvanje, deformacije oblike zrnja ipd.) pri 28 % zrnja. Med samim postopkom čiščenja smo

odstranili povprečno 8–18 % zrnja in nečistoč v razsutem stanju (močno okužena, zmečkana in polomljena zrnja, slama in druge nečistoče).

Osnovno količino zrnja (2500 kg, NZ – neočiščeno zrnje) smo temeljito premešali in razdelili v 15 osnovnih podvzorcev (NZ 1–15). Sistem oblikovanja podvzorcev zrnja in struktura poskusa je prikazana na sliki 9. Pet kilogramov težke vzorce pšenice smo vzeli iz vsake podserije za namen analiziranja vsebnosti DON in NIV pred procesiranjem. Pet serij (NZ 1–5), vsaka po 300 kilogramov (skupna masa serij 1500 kg), in pet serij (NZ 6-10), vsaka po 100 kilogramov (skupna masa serij 500 kg) je bilo obdelanih z industrijskimi čistilnimi napravami (IČ – industrijsko čiščenje – več industrijskih separatorjev, sit in aspiratorjev). Pet serij (NZ 11–15), vsaka po 100 kilogramov (skupna masa serij 500 kg), smo očistili s pomočjo tradicionalnega preprostega čistilnika – vejalnika (TČ – preprosto čiščenje na kmetiji – preprosta naprava z vgrajenim aspiratorjem), ki se pogosto uporabljajo na kmetijah. Tako smo dobili 15 serij očiščenega zrnja (OZ – očiščeno zrnje – OZ 1–5, OZ 6–10 in OZ 11–15), nato smo iz vsake odvzeli pet kilogramov težke vzorce ter jih poslali na analizo vsebnosti DON in NIV. Tako smo izračunali zmanjšanje/povečanje vsebnosti DON in NIV zaradi vpliva postopka čiščenja.



Slika 9: Zasnova poskusa, pri katerem smo ugotavljali zmanjševanje vsebnosti mikotoksinov med peko kruha

Picture 9: The design of the experiment in which we observed the reduction of the levels of mycotoxins during bread baking

3.2.1 Zasnova mlevskega poskusa in tipi proizvedene moke

Poskus z mletjem smo izvedli v zasebnem mlinskem podjetju Mlinarstvo Sajko, s. p., ter na ekološki kmetiji Kvas (Anton Kvas, Dolgi Vrh – Laporje), kjer ima proizvodnja polnozrnatih mok s pomočjo mlinskega kamna dolgo tradicijo. Serije zrnja OZ 1–5 so bile zmlete z uporabo standardnega industrijskega valjčnega mlina (IVM), serije OZ 6–10 z uporabo industrijskega kladvastega mlevskega stroja (IMK) ter serije OZ 11–15 z uporabo tradicionalnega mlinskega kamna (TMK). Kot rezultat mletja smo dobili pet serij vzorcev standardne industrijske moke (IVM-moka 1–5), 5 serij industrijske polnozrnate moke (IMK-moka 6–10) in pet serij tradicionalne polnozrnate moke (TMK-moka 11–15). Iz vsake serije smo odvzeli tri kilograme moke za analizo vsebnosti DON in NIV in oceno osnovne pekovske lastnosti mok. Moke smo analizirali v podjetju Intes Maribor na splošne lastnosti, rezultate prikazujemo v preglednicah 18–20. Mlevske postopke v poskusu smo izvajali s posnemanjem dejanskih tehnik mletja, ki se uporabljajo v industriji in na kmetijah, brez sprememb zaradi same izvedbe poskusa. Želeli smo popolnoma posnemati tipične postopke mletja. Pri IVM-načinu mletja smo pustili stroje teči na prazno 20 minut med procesiranjem različnih serij, da smo preprečili mešanje mok različnih serij. Vzorce mok smo odvzeli iz zadnjih 30 kilogramov moke z namenom, da bi še dodatno preprečili navzkrižno kontaminacijo mok iz različnih serij.

3.2.2 Priprava testa za peko kruha

Iz vsake od 15 serij mok smo pripravili testo glede na standardne industrijske in tradicionalne načine peke kruha. 15 vzorcev testa smo pripravili za peko v električni industrijski peči in 15 vzorcev za peko v tradicionalni keramični peči, ogrevani z lesno maso. Vse tipe testa smo pripravili z mešanjem vode, soli, moke in kvasa, brez ostalih dodatkov. Po mešanju testa do optimalnega stanja je sledilo fermentiranje (počivanje) testa za 20 minut, gnetenje testa za nekaj minut ter nato fermentiranje za 75 minut pri

polnozrnati moki in 45 minut pri standardni industrijski moki. Potem smo stručke (kilogram in pol vsaka) položili v industrijsko ali keramično peč.

3.2.3 Postopek peke kruha

Peko v keramični pečici smo izvedli na kmetiji Sajko s pomočjo gospodinje, ki ima preko 30 let izkušenj s peko kruha. Peko v industrijski peči smo izvedli v pekarni Aidaren blizu Ptuja. Temperatura zraka pred začetkom peke v industrijski peči je bila med 200 in 205 °C in 225 in 235 °C v keramični peči. V obeh primerih je peka trajala 70 minut za vse tipe kruha. Med peko smo merili temperaturo skorje kruha v 10-minutnih intervalih s pomočjo laserskega infrardečega termometra (Nieaf Instruments NI T 833). Merilno točko smo usmerjali v sredino vrha vsake štruce kruha. Temperatura skorje kruha se je med peko v industrijski peči zmanjšala z 205 na 175 °C, pri peki v keramični peči pa iz 235 na 185 °C v obdobju 70 minut med peko. Po peki smo ohlajene štruce kruha zavili v plastično folijo in odnesli v laboratorij. Kruh smo položili v zamrzovalnik in 14 dni po peki analizirali na vsebnost DON in NIV.

3.2.4 Analiza vsebnosti DON in NIV

Analize vsebnosti trihotecenov v vzorcih smo opravili v laboratoriju QUANTAS Analytik GmbH, Europe, Technopark 1, 3430 Tulln, Austria. Uporabljena metoda je bila HPLC-analiza z UV-detekcijo. Podrobno predstavitev standardne, mednarodno potrjene metode diagnostičnih protokolov je navedena v Fuchs s sodelavci (2004), prav tako je dostopna na spletu na naslovu www.romerlabs.com.

Osnovni vzorci pšenice so tehtali po pet kilogramov, moke po tri kilograme in vzorci kruha (vsaka štruca) po kilogram in pol. Po osnovnem mletju vzorcev z uporabo mlina Romer Series II mill (Romer Labs. Inc., MO, USA) je sledila homogenizacija.

Za izvedbo analiz so uporabili HPLC-napravo (tekočinski kromatograf) HP 1100 Series HPLC, opremljeno s kolonama HP Hypersil ODS column (2.0×125 mm, 5 µm) in HP Hypersil ODS precolumn (2.0×4 mm, 5 µm) (Agilent® technologies, Nemčija). Zmlete in homogenizirane vzorce so obdelali z raztopino 100 mililitrov acetonitril : vode (84 : 16, v/v) za tri minute. Potem so jih filtrirali preko filter papirja in dalje preko filtrov Mycosep® 227 first step cleanup column ter Mycosep® 216 final step cleanup column (Romer Labs. Inc., MO, USA). Injektirani volumen za analizo na HPLC-aparatu je znašal 50 µl. Detekcija se je izvajala z uporabo detektorja HP 1100 series diode array detector (DAD) pri valovni dolžini 220 nm. Stopnja detekcije je znašala 20 µg (± 40 %), stopnja kvantifikacije pa 100 µg (± 20 %).

3.2.5 Statistične metode pri poskusu s postopki čiščenja in peke

Poskus smo zasnovali kot faktorski poskus z dvema dejavnikoma (vrsta moke, način peke) z razporeditvijo v naključnih skupinah v petih ponovitvah. Izvedli smo standardno analizo variance. Za ocenjevanje statističnih razlik med obravnavanji smo uporabili Tukey HSD-test ($P < 0,05$) in t-test ($P < 0,05$).

3.3 Zasnova in postopek skladiščnega poskusa

Pred začetkom skladiščnega poskusa so pšenično moko (iz sorte Isengrain) proizvedli v industrijskem obratu Mlinarstvo Sajko ter na ekološko usmerjeni kmetiji Kvas, kjer so polnozrnato moko proizvedli z uporabo tradicionalnega mlevskega kamna.

Začetne vsebnosti DON in NIV v naravno okuženih poskusnih vzorcih pšenice so se gibale od 1400–2200 µg/kg za DON in 130–200 µg/kg za NIV. Za nadaljnje preizkuse smo izbrali pšenico, pri kateri je testirani vzorec pokazal največje vsebnosti obeh toksinov, ker je bila tako lažja primerjava rezultatov. Začetna vsebnost vlage je bila 13,2 %. Tri različne tipe moke so proizvedli iz iste sorte pšenice (Isengrain): ISM – industrijska standardna moka, IPM – industrijska polnozrnata moka in TRM – tradicionalno proizvedena moka mleta s pomočjo kamna. Karakteristike moke so predstavljene v preglednici 11. Determinacijo osnovnih lastnosti moke so bila izvedli v laboratoriju mlevskega podjetja Intes Maribor z uporabo standardnih postopkov (ISO 1998, 2003, 2004, 2007). ISM-standardno moko so proizvedli iz zrnja, ki je bilo očiščeno z industrijskimi napravami za čiščenje (kombinacija separatorjev in aspiratorjev) in zmleto z industrijskim valjčnim mlinom za mletje. IPM-moko pa so proizvedli na način, da je bilo zrnje zmleto z mlinom kladivarjem. Zrnje, uporabljeno za TRM-moko, so najprej očistili z uporabo primitivnega tradicionalnega čistilnika semena in pozneje zmleli z uporabo mlina na kamen.

Začetne vsebnosti DON in NIV v moki niso bile enake, ker so nanje vplivali različni načini mletja (preglednica 13–14). Kot rezultat mletja smo pripravili pet serij vseh tipov mok. Iz vsake serije moke smo odvzeli in skladiščili 10-kilogramske vzorce. Zaradi primerjave začetnih vrednosti DON in NIV s tistimi na koncu smo odvzeli tri kilograme težke vzorce in jih poslali na analize.

3.3.1 Material za pakiranje in skladiščni pogoji

Moke smo pakirali na tri različne načine in skladiščili 120 dni pri dveh različnih atmosferskih pogojih. Želeli smo posnemati skladiščno okolje kmetij in industrijskih obratov. Dvoslojne papirnate vrečke (AeroPapiroti, d. o. o, Slovenija) in polipropilenske vrečke (AeroPapiroti, d. o. o, Slovenija) smo uporabili za skladiščenje moke. Papirnate vrečke so bile od proizvajalcev moke razglašene kot primerne za skladiščenje moke v

industrijskih obratih in trgovskih skladiščih. Polipropilenske prozorne vrečke (0,2 mm) so bile označene kot primerne za pakiranje večine živil. Vsako vrečko smo napolnili z desetimi kilogrami moke. Papirnate vrečke in ena skupina polipropilenskih vrečk niso bile popolnoma zaprte, tako da je imela skladiščna atmosfera dostop do moke. Ena skupina vrečk pa je imela izpraznjen zrak in je bila vakumsko zaprta z uporabo gospodinjskega vakumskega pakirnega stroja. Ta skupina je bila kontrolna skupina za ocenjevanje, če je imela skladiščna atmosfera kakšen vpliv na ohranjanje trihotecenskih mikotoksinov.

Vrečke z moko smo skladiščili v dveh različnih sobah v skladišču mlinskega podjetja. Obe skladiščni sobi sta imeli normalno atmosfero in sta bili klimatizirani. Skladiščna temperatura v prvi sobi je bila konstantna pri 10 ± 2 °C in v drugi pri 25 ± 2 °C. Zračna vlaga v prvi sobi je bila med 65 in 75 % in v drugi sobi med 60 in 70 %. Vrečke smo naključno zložili na lesene palete. Naključna razporeditev je omogočala, da so bile vrečke z različnimi tipi moke izpostavljene različni mikroklimi na paleti. Poskusna zasnova je bila poskus v naključnih skupinah z več dejavniki (tip moke, tip pakirnega materiala, pogoji skladiščenja).

3.3.2 Analize mikotoksinov v moki

Analize vsebnosti DON v vzorcih pšenice in moke so bile izvedene v laboratoriju QUANTAS Analytik GmbH, Tulln, Austria. Uporabljena metoda je bila HPLC-analiza z UV-detekcijo. Podrobno predstavitev standardiziranega, mednarodno priznanega diagnostičnega protokola je predstavila prof. Fuchs s sodelavci (2004). Postopek je bil enak, kot je opisano v poglavju 3.2.4.

3.3.3 Statistične metode pri skladiščnem poskusu

Skladiščni poskus smo zasnovali kot trifaktorski poskus s petimi ponovitvami. Preučevani faktorji so bili tip moke (ISM – standardna industrijska moka, IPM – industrijska polnozrnata moka in TRM – tradicionalna polnozrnata moka), tip materiala za skladiščenje moke (papirnata ali plastična vrečka) in skladiščni režim (10 °C ali 25 °C). Povprečne vrednosti vsebnosti mikotoksinov in standardno napako povprečnih vrednosti na začetku (PS) in na koncu skladiščenja (KS) smo izračunali. Vsebnosti ob KS (konec skladiščenja) so tudi prikazane kot relativne povprečne vrednosti (relativne vrednosti KS) v razmerju z PS-vrednostmi (pred začetkom skladiščenja). Relativne KS-vrednosti (rKS) smo izračunali na način $rKS = ((KS/PS) \times 100)$ in so izražene v odstotkih. Spremembe v vsebnosti mikotoksinov (povečanja in zmanjšanja) so izražene numerično. Za posamezne primerjave povprečnih vrednosti PS in KS za specifične kombinacije faktorjev preizkusa smo uporabili dvosmerni *t*-test. Podatke o *t*-vrednostih, stopnjah prostosti (*df*) in točne vrednosti *P* smo vključili v preglednico z rezultati. Podatke o odstotkih rKS povprečij smo obdelali z ANOVO. Izvedli smo transformacije (arkus sinus kvadratni koren (*X*), kvadratni koren (*X*) in druge) sorazmerno na KS-podatke. Rezultati analize transformiranih podatkov so bili enaki kot v primeru netransformiranih podatkov, zato smo za diskusijo rezultatov uporabili podatke ANOVE netransformiranih vrednosti. Za določitev signifikantnih razlik povprečij glavnih obravnavanj in povprečij individualnih kombinacij dejavnikov smo uporabili Tukey's HSD-test ($P < 0,05$).

4 REZULTATI Z RAZPRAVO

4.1 Rezultati vizualnega opazovanja stopnje okužbe klasov v poljskem poskusu

Preglednica 7: Primerjava pridelka (13-odstotna vlaga), distribucija velikostnih razredov zrnja med čiščenjem požetega zrnja, FHB-stopnja, določena vizualno pri BBCH 48 (odstotki okužene površine klasov), in vsebnost DON pred čiščenjem med štirimi pšeničnimi kultivarji s parcelic, škropljenih ali neškropljenih s fungicidi (lokacija Maribor). Podatki za razrede so izraženi kot odstotki mase posameznega razreda v celotni teži vzorca.

Table 7: Comparison of yield (13% moisture), distribution of grain in size classes during cleaning of harvested grain, FHB rate determined visually at BBCH 48 (% infected surface spike) and DON content before cleaning between 4 wheat cultivars from the plots of treated and untreated with fungicides (location Maribor) . Data for the classes are expressed as % of weight of each weight class in the entire sample.

Škropljeno s fungicidi:	Renan	S. žitarka	Bastide	Incisif	Povprečje:
Pridelek (kg/ha)	5306 Bc*	5049 Bb	5036 Ab	4719 Ba	5028 B
Fracija < 1,8 mm (%)	3,3 Ab	2,9 Aab	1,4 Aa	4,4 Ab	3,0 A
Fracija 1,8–2,0 mm (%)	6,4 Aa	14,7 Ab	3,4 Aa	15,1 Ab	9,9 A
Fracija 2,0–2,4 mm (%)	11,7 Aab	7,7 Aa	15,1 Ab	9,3 Aa	10,9 A
Fracija > 2,4 mm (%)	78,6 Bb	74,7 Ba	80,1 Bb	71,2 Ba	76,1 B
FHB-stopnja klasa (%)	14,3 Aa	23,7 Ab	12,4 Aa	30,6 Ab	20,3 A
FDK (%)	16,8 Ab	26,5 Ac	8,4 Aa	30,5 Ac	21,1 A
DON-vsebnost (µg/kg)	933 Aa	2548 Ab	1137 Aa	3189 Ac	1952 A
Brez fungicidov:	Renan	S. žitarka	Bastide	Incisif	Povprečje:
Pridelek (kg/ha)	4850 Ac	3969 Ab	4703 Ac	3306 Aa	4207 A
Fracija < 1,8 mm (%)	4,8 Bbc	6,6 Bc	2,8 Ba	7,8 Bc	5,5 B
Fracija 1,8–2,0 mm (%)	10,6 Bb	19,2 Bc	4,9 Aa	21,2 Bc	14,0 B
Fracija 2,0–2,4 mm (%)	13,2 Aab	7,1 Aa	17,3 Ab	9,3 Aa	11,7 A
Fracija > 2,4 mm (%)	71,4 Abc	67,1 Ab	75,0 Ac	61,7 Aa	68,8 A
FHB-stopnja klasa (%)	23,9 Bb	36,9 Bc	15,2 Ba	42,8 Bd	29,7 B
FDK (%)	22,5 Bb	34,2 Bc	14,3 Ba	37,7 Ad	27,2 B
DON-vsebnost (µg/kg)	2425 Ba	3065 Bb	2878 Bb	4023 Bc	3098 B

* Velike črke služijo za primerjavo med parametri s fungicidom škropljenih in neškropljenih poskusnih parcelic (t-test; $P < 0,05$) in majhne črke za primerjavo specifičnih parametrov med različnimi pšeničnimi kultivarji (Tukey test, $P < 0,05$). Vse vrednosti so povprečje štirih vrednotenj. Vrednosti, označene z enakimi črkami, se signifikantno ne razlikujejo glede na uporabljen test. FDK – odstotek s fuzariozami okuženih zrn.

Preglednica 8: Primerjava pridelka (13-odstotna vlaga), distribucija velikostnih razredov zrnja med čiščenjem požetega zrnja, FHB-stopnja, določena vizualno pri BBCH 48 (odstotki okužene površine klasov) in vsebnost DON pred čiščenjem med štirimi pšeničnimi kultivarji s parcelic, škropljenih ali neškropljenih s fungicidi (lokacija Jablje). Podatki za razrede so izraženi kot odstotki teže posameznega razreda v celotni teži vzorca.

Table 8: Comparison of yield (13% moisture), distribution of grain in size classes during cleaning of harvested grain, FHB rate determined visually at BBCH 48 (% infected surface spike) and DON content before cleaning between 4 wheat cultivars from the plots of treated and untreated with fungicides (location Jablje) . Data for the classes are expressed as % of weight of each weight class in the entire sample.

Škropljeno s fungicidi:	Renan		S. žitarka		Bastide		Incisif		Povprečje:	
Pridelek (kg/ha)	6518	Bb	5907	Ba	6959	Bc	6380	Bb	6441	B
Frakcija < 1,8 mm (%)	0,6	Aa	2,7	Ab	1,0	Aa	4,2	Ac	2,1	A
Frakcija 1,8–2,0 mm (%)	9,7	Ab	9,3	Ab	6,3	Aa	7,1	Aa	8,1	A
Frakcija 2,0–2,4 mm (%)	4,2	Aa	5,6	Aa	16,5	Ab	18,8	Ab	11,3	A
Frakcija > 2,4 mm (%)	85,5	Bc	82,4	Bc	76,2	Bc	69,9	Aa	78,5	B
FHB-stopnja klasa (%)	6,9	Aa	20,4	Ab	5,7	Aa	17,9	Ab	12,7	A
FDK (%)	12,3	Aa	21,5	Ab	10,4	Aa	22,7	Ab	16,2	A
DON-vsebnost (µg/kg)	557	Aa	1289	Ab	1151	Ab	2837	Ac	1458	A
Brez fungicidov:	Renan		S. žitarka		Bastide		Incisif		Povprečje:	
Pridelek (kg/ha)	6085	Ab	5090	Aa	6553	Ac	5097	Aa	5706	A
Frakcija < 1,8 mm (%)	1,4	Ba	4,4	Bb	1,9	Ba	4,7	Ab	3,1	B
Frakcija 1,8–2,0 mm (%)	17,4	Bc	12,7	Bb	4,5	Aa	14,3	Bbc	12,2	B
Frakcija 2,0–2,4 mm (%)	6,6	Aa	14,8	Bb	24,5	Bc	15,1	Ab	15,2	A
Frakcija > 2,4 mm (%)	74,6	Ab	68,1	Aa	69,1	Aa	65,9	Aa	69,4	A
FHB-stopnja klas (%)	11,8	Ba	29,2	Bb	9,0	Ba	28,5	Ba	19,6	B
FDK (%)	18,5	Ba	26,7	Bb	14,5	Ba	29,7	Bb	22,4	B
DON-vsebnost (µg/kg)	1855	Ba	2454	Bb	1910	Ba	2908	Ac	2282	B

* Velike črke služijo za primerjavo med parametri s fungicidom škropljenih in neškropljenih poskusnih parcelic (t-test; $P < 0,05$) in majhne črke za primerjavo specifičnih parametrov med različnimi pšeničnimi kultivarji (Tukey test, $P < 0,05$). Vse vrednosti so povprečje štirih vrednotenj. Vrednosti označene z enakimi črkami, se signifikantno ne razlikujejo glede na uporabljen test. FDK – odstotek s fuzariozami okuženih zrn.

V poskusu na lokaciji Maribor sta se pri uporabi fungicidov glede na odstotek ocenjenih fuzarioz klasa (FHB) kot najboljši izkazali sorta Bastide (12,7 %) ter Renan (14,3 %). Sorti Super žitarka (23,7 %) ter Incisif (30,6 %) sta imeli statistično značilno večjo prisotnost FHB. Statistično značilno najnižji odstotek FDK je imela sorta Bastide (8,4 %), ostale sorte so imele večje vrednosti, Renan 16,8 %, Super žitarka 26,5 % ter Incisif 30,5 %. Najmanjšo vsebnost DON sta v povprečju vsebovali sorti Renan (933 $\mu\text{g}/\text{kg}$) ter Bastide (1137 $\mu\text{g}/\text{kg}$), medtem ko je sorta Incisif vsebovala največ DON (3189 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Pri neuporabi fungicidov na tej lokaciji se je kot sorta s statistično značilno najmanjšo povprečno okužbo z FHB izkazala sorta Bastide (15,2 %). Ostale sorte so bile bolj dovzetne za okužbe (Renan 23,9 %, Super žitarka 36,9 % ter Incisif 42,8 %). Najmanjši delež FDK je imela sorta Bastide (14,3 %), medtem ko so ostale sorte imele statistično značilno višji odstotek poškodovanih zrn. Na lokaciji Maribor se je kot sorta z najmanj determiniranimi znamenji prisotnosti FHB ter FDK izkazala sorta Bastide v obeh variantah, medtem ko povprečje poskusov nakazuje manjšo prisotnost FHB in FDK pri uporabi fungicidov. Najmanjšo vsebnost DON je imela sorta Renan (2425 $\mu\text{g}/\text{kg}$), medtem ko je sorta Incisif imela najvišjo vsebnost (4023 $\mu\text{g}/\text{kg}$) DON. Statistično značilno višjo povprečno vsebnost DON smo ugotovili pri poskusu brez uporabe fungicidov (3098 $\mu\text{g}/\text{kg}$ na lokaciji Maribor ter 2282 $\mu\text{g}/\text{kg}$ na lokaciji Jablje) (preglednici 7 in 8).

V poskusu na lokaciji Jablje (Ljubljana) sta pri uporabi fungicidov, podobno kot v Mariboru, najmanj vidnih znamenj prisotnosti FHB izkazovali sorti Bastide (5,7 %) ter Renan (6,9 %), medtem ko so bile vrednosti pri Super žitarki (20,4 %) ter sorti Incisif (17,9 %) večje. Podobni rezultati so pri FDK, kjer je bil najmanjši delež takih zrn ugotovljen pri sorti Bastide (10,4 %) ter sorti Renan (12,3 %). Sorti Super žitarka (21,5 %) ter Incisif (22,7 %) sta imeli statistično značilno večji odstotek FDK. Najnižja vsebnost DON je bila pri sorti Renan (557 $\mu\text{g}/\text{kg}$) ter najvišja pri sorti Incisif (2837 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Pri neuporabi fungicidov sta najmanjši odstotek okužb z FHB imeli sorti Bastide (9 %) in Renan (11,8 %), sledita sorti Incisif (28,5 %) ter Super žitarka (29,2 %). Odstotek FDK sta imeli statistično značilno najmanjši sorti Bastide (14,5 %) ter Renan (18,5 %), sledita sorti Super žitarka (26,7 %) in Incisif (29,7 %). Najmanjšo vsebnost DON sta imeli sorti Renan (1855 $\mu\text{g}/\text{kg}$) in Bastide (1910 $\mu\text{g}/\text{kg}$), najvišjo pa sorta Incisif (2908 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Vsi trije parametri

so bili statistično značilno višji pri poskusu brez uporabe fungicidov (preglednica 8), razen pri sorti Incisif, kjer ni bilo razlik med obema načinoma.

4.1.1 Razprava o rezultatih vizualnega opazovanja stopnje okuženosti s fuzariozami v poljskem poskusu

Signifikantne razlike med sortami in vsebnostmi DON so bile opažene v mnogih poskusih, izvedenih v preteklosti (Bai s sod. 2001). Sorte se lahko zelo razlikujejo glede obrambnih mehanizmov in glede prodiranja glive s primarno okuženih točk klaskov po celotnem območju klasa. Korelacija med vsebnostjo DON in stopnjo okužb na polju je bila pri poskusih izvedenih s strani Baia in sodelavcev (2001) odvisna od tipa odpornosti na FHB. Različne sorte imajo različne načine odpornosti. Najpogostejša sta tip I. (odpornost proti začetnim penetracijam ob infekciji) in tip II. (odpornost proti širjenju patogena po tkivih gostitelja, po prodoru v notranjost) (Mesterházy s sod. 1999). Pri določenih sortah lahko okuženo tkivo tolerira velike stopnje DON, ne da bi bilo deformirano. V teh primerih izgleda zrno relativno nedeformirano, vendar lahko vseeno vsebuje veliko DON (Mesterházy 2002). Takšno odpornost na toksine so označili kot tip V (Mesterházy 2003, Mesterházy s sod. 1999).

V raziskavah Mesterházyja (2003) in Mesterházyja s sodelavci (1999) so identificirali pšenične genotipe, pri katerih je bila vsebnost DON signifikantno večja, kot so pričakovali glede na korelacijske funkcije med DON- in FHB-stopnjo okužbe na njivi ali pri pregledu zrnja v skladišču. Tako so priskrbeli dokaze o pšeničnih genotipih, pri katerih obstaja nizka korelacija med DON in FHB ali FDK, njihovi rezultati so primerljivi z našimi.

Podobne razlage o neskladju v razmerju med FHB- in FDK-stopnjo ter vsebnostjo DON so bile predstavljene v raziskavah Snijdersa (1990a, b, c), Bennett in Richard (1996) ter Sinha in Savard (1997). Nasprotno od naših dognanj, pa so v raziskavi Hernandez Nopsa s sodelavci (2012) dokazali zelo tesne korelacijske povezave. Tolerantna sorta uporabljena v

njihovem poskusu, je prav tako rezultirala z večjimi vsebnostmi DON kot na FHB občutljiva sorta, kar je primerljivo z našimi rezultati. Nasprotno pa rezultati mnogih raziskav nakazujejo, da občutljive sorte vsebujejo večje vsebnosti DON kot zmerno tolerantne (Miller s sod. 1985, Mesterházy s sod. 2003, Mesterházy s sod. 1999).

Cowger in Arrellano (2010) ter Osborne (2007) so predstavili odkritja glede ene možne poti razvoja bolezni. Če spore kalijo na gostiteljskem tkivu razmeroma pozno v razvoju semena, se pojavi površinski razvoj gliv. Stopnja okužbe in glavni vidni simptomi se v večini primerov ne morejo razviti v enakem obsegu kot pri zgodnjih okužbah v času cvetenja. Vpliv pozne okužbe na nastanek toksinov še ni povsem razjasnjen. Pri teh poznih okužbah lahko glive kolonizirajo tkivo zrna tudi brez neposrednega parazitiranja (uničevanja tkiv). Tako lahko tudi ob odsotnosti vseh vidnih znamenj prisotnosti glive najdemo ob žetvi mikotoksine v zrnju.

Ena od možnih poti glivičnih okužb je tudi notranja sistemčna okužba. Bila je potrjena pri patogenezi glive *F. culmorum* (Wagacha in Muthomi 2006). Sistemčne okužbe ponavadi vodijo k popolnemu uničenju celotnega klasa. Vendar je možno tudi, da aplikacija fungicidov preprečuje hiter razvoj micelija v notranjosti plev in tako povzročijo le latentni razvoj v plevah in posameznih zrnih, ki ostanejo skoraj nespremenjena.

En razlog za prisotnost DON v navidezno zdravih zrnih je lahko tudi translokacija DON iz okuženih tkiv v tkiva, ki niso okužena. DON je vodotopen in se tako lahko translocira po floemskem tkivu pšenice. Tako so DON odkrili v tkivih klasov, okuženih s *F. culmorum*, in tudi v klaskih, ki niso bili neposredno okuženi in v katerih glivnega micelija ni bilo (Snijders in Krechting 1992). Tudi toksini, proizvedeni na plevah, se lahko v deževnih obdobjih translocirajo v zrnje (Snijders in Krechting 1992).

Beyer s sodelavci (2007) je demonstriral, da potrebujemo zelo veliko natančnost čiščenja zrnja, če hočemo ločevati zdravo zrnje od okuženih. Dokazali so, da je bilo v povprečju 4,27 % okuženih zrn dovolj, da so dosegli mejo 1250 µg/kg za nepredelano zrnje, ki je zakonsko določena dovoljena meja za vsebnosti DON v EU. Korelacija med stopnjo

okužbe in vsebnostjo DON je bila v njihovi raziskavi zelo velika (determinacijski koeficient 0,93–0,99). Prišli so do zaključka, da podobne stopnje FHB-okužb v poljskih pogojih lahko vodijo v različne stopnje FDK in tudi v različne vsebnosti DON v zrnju po čiščenju. Točna napoved stopnje DON v zrnju pšenice na podlagi vizualnega opazovanja stopnje okužbe na njivi ali vizualnega opazovanja izražanja bolezni na zrnju je glede na njihovo mnenje zelo nenatančna. To pomeni, da tudi odsotnost vidnih znamenj prisotnosti fuzarijskih okužb ni zagotovilo, da polnozrnata moka, pridobljena iz pšenice brez vidnih znamenj okužb, ne bo vsebovala velikih količin DON. Določitve DON pred mletjem se morajo zato morajo izvajati vedno, ne glede na vizualno stanje zrnja pred mletjem. To je dejstvo, ki ga proizvajalci polnozrnate moke na nivoju kmetij ne poznajo dovolj. Na podlagi nekaterih prejšnjih raziskav o redukciji DON tekom čiščenja, mletja in peke in tudi naših rezultatov, lahko trdimo, da je samo zrnje, ki vsebuje pod 500 µg/kg DON, primerno za predelavo v polnozrnato moko. Le pri takšnem zrnju lahko zagotovo zagotovimo vrednosti mikotoksinov, ki so nižje od zakonsko predpisanih meja. Če ima zrnje večje izhodiščne vsebnosti (po zakonodaji dovoljeno 750 µg/kg) po našem mnenju ni primerno za predelavo v polnozrnate izdelke in v tem segmentu zakonodaja ni ustrezna.

4.2 Rezultati analize vsebnosti mikotoksinov glede na frakcijo zrn, dobljeno pri čiščenju

Preglednica 9: Primerjava razredov zrnja, urejenih glede na prisotnost FHB-simptomov, ocenjenih z vizualnim razvrščanjem semen pred (PČ) in po čiščenju (F1, F2). Lokacija Maribor

Table 9: Comparison of grain classes arranged according to the presence of FHB symptoms, assessed by visual classification of seeds before (PČ) and after treatment (F1, F2). Location Maribor

Škropljeno s fungicidi	Renan		S. žitarka		Bastide		Incisif		Povprečje:	
Brez FHB (%) PČ	66,5	Baa*	74,9	Bba	72,4	Aba	62,4	Aaa	69,1	Ba
Col ch Ne SH (%) PČ	19,8	Aab	17,2	Aab	17,7	Aab	23,3	Aac	19,5	Ab
Col ch M. SH (%) PČ	6,4	Aaa	5,1	Aaa	6,6	Aaa	9,0	Aba	6,8	Aa
Col ch Sig. SH (%) PČ	7,3	Abc	2,8	Aab	3,3	Aac	5,3	Aabc	4,7	Ac

Brez FHB (%) F2	75,1	Aab	74,4	Aaa	73,3	Aaa	70,9	Aab	73,4	Aa
Col ch Ne SH (%) F2	5,5	Aaa	8,8	Aaba	11,9	Bba	11,2	Bba	9,4	Ba
Col ch M. SH (%) F2	14,7	Aab	14,0	Aab	13,5	Aab	14,2	Aab	14,1	Ab
Col ch Sig. SH (%) F2	4,7	Abb	2,8	Aab	1,2	Aab	3,7	Aabb	3,1	Ab

Brez FHB (%) F1	74,3	Bab	71,1	Aaa	72,2	Aaa	73,4	Aab	71,8	Aa
Col ch Ne SH (%) F1	17,4	Aab	23,2	Abc	22,1	Bbb	17,9	Aab	20,2	Ab
Col ch M. SH (%) F1	6,7	Aaa	4,6	Aaa	5,1	Aaa	7,4	Aaa	6,0	Aa
Col ch Sig. SH (%) F1	1,6	Aba	1,1a	Aaa	0,6a	Aaa	1,3	Aaba	1,2	Aa

Brez fungicidov:	Renan		S. žitarka		Bastide		Incisif		Povprečje:	
Brez FHB (%) PČ	56,3	Aaa	55,7	Aaa	66,0	Aba	56,6	Aaa	58,7	Aa
Col ch Ne SH (%) PČ	21,1	Abb	20,8	Abb	16,1	Aab	23,2	Abc	20,3	Ab
Col ch M. SH (%) PČ	13,8	Bba	11,9	Bab	8,8	Aaa	10,9	Aaa	11,4	Bab
Col ch Sig. SH (%) PČ	8,8	Aac	11,6	Bbb	9,1	Bac	9,3	Bab	9,7	Bb

Brez FHB (%) F2	65,4	Aab	72,2	Aab	81,2	Bbc	79,2	Abc	74,5	Ac
Col ch Ne SH (%) F2	6,8	Aaa	6,9	Aaa	5,7	Aaa	5,2	Aaa	6,2	Aa
Col ch M. SH (%) F2	22,6	Bbb	14,8	Aab	9,8	Aaa	11,9	Aaa	14,8	Ab
Col ch Sig. SH (%) F2	5,2	Aab	6,1	Bba	3,3	Bab	3,7	Aaa	4,6	Ba

Brez FHB (%) F1	63,0	Aaab	66,4	Aab	76,2	Abb	68,3	Aab	68,5	Ab
Col ch Ne SH (%) F1	23,3	Abb	18,1	Aab	12,9	Aaab	14,2	Aab	17,1	Ab
Col ch M. SH (%) F1	11,0	Baa	7,6	Aaa	8,5	Baa	12,3	Bba	9,9	Ba
Col ch Sig. SH (%) F1	2,7	Aaa	7,9	Bca	2,4	Baa	4,2	Bba	4,3	Ba

* Velike črke služijo za primerjavo med parametri s fungicidom škropljenih in neškropljenih parcelic z uporabo t-testa ($P < 0,05$). Majhne črke služijo za primerjavo specifičnih parametrov med pšeničnimi kultivarji in majhne poudarjene črke za primerjavo parametrov pred in po čiščenju z uporabo Tukey HSD-testa ($P < 0,05$). Vse vrednosti so povprečje osmih vrednotenj. Vrednosti, označene z enakimi črkami, se signifikantno ne razlikujejo glede na uporabljen test.

Legenda:

Brez FHB – ni zaznavnih znamenj okužbe zrnja, Col ch Ne SH – opažene spremembe barve, ni vidnih sprememb oblike in velikosti, Col ch M. SH – opažene spremembe barve in zmerne spremembe oblike in velikosti zrn, Col ch Sig. SH – signifikantne spremembe v barvi zrn, obliki in velikosti. (%) – delež od teže vzorca. Vsak vzorec je bil sestavljen iz 300 zrn. F1 – frakcija zrn 2,0–2,4 mm, F2 – frakcija zrn > 2,4 mm.

Preglednica 10: Primerjava razredov zrnja, urejenih glede na prisotnost FHB-simptomov, ocenjenih z vizualnim razvrščanjem semena pred (PČ) in po čiščenju (F1, F2). Lokacija Jablje

Table 10: Comparison of grain classes arranged according to the presence of FHB symptoms, assessed by visual classification of seeds before (PČ) and after treatment (F1, F2). Location Jablje

Škropljeno s fungicidi	Renan		S. žitarka		Bastide		Incisif		Povprečje:	
Brez FHB (%) PČ	83,1	Aaa*	79,5	Bab	84,8	Abb	73,3	Baa	80,2	Bb
Col ch Ne SH (%) PČ	7,6	Aab	6,1	Aaa	5,0	Aaa	12,4	Abb	7,8	Aa
Col ch M. SH (%) PČ	6,4	Aaa	12,4	Aba	7,0	Aaa	7,5	Aaa	8,3	Aa
Col ch Sig. SH (%) PČ	2,9	Aab	2,0	Aaa	3,2	Aab	6,8	Abb	4,7	Ab

Brez FHB (%) F2	83,5	Bba	67,2	Aaa	77,6	Abab	68,4	Baa	74,2	Aa
Col ch Ne SH (%) F2	9,3	Aab	21,2	Bcb	14,3	Abb	11,9	Aab	14,2	Ab
Col ch M. SH (%) F2	5,6	Aaa	9,3	Aaa	6,7	Aaa	10,9	Aaa	8,1	Aa
Col ch Sig. SH (%) F2	1,5	Aaa	2,3	Aaa	1,4	Aaa	8,8	Abb	3,5	Ab

Brez FHB (%) F1	87,5	Aba	82,6	Aac	75,8	Aaa	79,6	Aaa	81,4	Ab
Col ch Ne SH (%) F1	4,2	Aaa	6,2	Aba	14,8	Acb	6,7	Aba	8,0	Aa
Col ch M. SH (%) F1	7,2	Baa	9,1	Aaa	8,3	Aaa	10,8	Aaa	8,9	Aa
Col ch Sig. SH (%) F1	1,1	Aaa	2,1	Aba	1,1	Aaa	2,9	Aba	1,8	Aa

Brez fungicidov:	Renan		S. žitarka		Bastide		Incisif		Povprečje:	
Brez FHB (%) PČ	77,5	Abb	62,3	Aaa	76,9	Aba	57,9	Aaa	68,7	Aa
Col ch Ne SH (%) PČ	10,8	Baa	12,7	Baa	11,0	Baa	14,2	Aab	13,3	Bab
Col ch M. SH (%) PČ	7,6	Aab	9,6	Aaba	9,4	Aabb	12,4	Bbb	9,7	Ab
Col ch Sig. SH (%) PČ	4,1	Bbb	10,9	Bcc	2,7	Aab	15,7	Bdc	8,4	Bc

Brez FHB (%) F2	69,2	Aba	72,8	Abab	77,1	Aba	56,7	Aaa	69,0	Aa
Col ch Ne SH (%) F2	22,4	Bbb	14,4	Aaa	15,2	Aab	28,6	Bcc	20,3	Bb
Col ch M. SH (%) F2	4,6	Aaa	7,9	Aba	4,8	Aaa	7,2	Aba	6,1	Aa
Col ch Sig. SH (%) F2	3,8	Bab	4,9	Babb	2,3	Baab	7,5	Abb	4,6	Bb

Brez FHB (%) F1	85,9	Abc	77,6	Aab	77,4	Aaa	78,9	Aab	80,0	Ab
Col ch Ne SH (%) F1	8,9	Baa	12,8	Baa	10,3	Aaa	9,4	Baa	10,4	Ba
Col ch M. SH (%) F1	4,1	Aaa	7,0	Aba	10,5	Acb	7,8	Aba	7,4	Aa
Col ch Sig. SH (%) F1	1,1	Aaa	2,6	Aaba	1,8	Aaa	3,9	Bba	2,4	Aa

* Velike črke služijo za primerjavo med parametri s fungicidom škropljenih in neškropljenih parcelic z uporabo t-testa ($P < 0,05$). Majhne črke služijo za primerjavo specifičnih parametrov med pšeničnimi kultivarji in majhne poudarjene črke za primerjavo parametrov pred in po čiščenju z uporabo Tukey HSD-testa ($P < 0,05$). Vse vrednosti so povprečje osmih vrednotenj. Vrednosti, označene z enakimi črkami, se signifikantno ne razlikujejo glede na uporabljen test.

Legenda:

Brez FHB – ni zaznavnih znamenj okužbe zrnja, Col ch Ne SH – opažene spremembe barve, ni vidnih sprememb oblike in velikosti, Col ch M. SH – opažene spremembe barve in zmerne spremembe oblike in velikosti zrn, Col ch Sig. SH – signifikantne spremembe v barvi zrn, obliki in velikosti. (%) – delež od teže vzorca. Vsak vzorec je bil sestavljen iz 300 zrn. F1 – frakcija zrn 2,0–2,4 mm, F2 – frakcija zrn > 2,4 mm.

Preglednica 11: Vsebnost DON v zrnju ($\mu\text{g}/\text{kg}$) pred čiščenjem (PČ) in po čiščenju (KČ), v dveh velikostnih frakcijah zrnja štirih pšeničnih kultivarjev s parcel, škropljenih in neškropljenih s fungicidi. Lokacija Maribor

Table 11: DON content in grain ($\mu\text{g}/\text{kg}$) before cleaning (PČ) and after cleaning (KČ) in two grain size fractions of four wheat cultivars in plots treated and untreated with fungicides. Location Maribor

Škropljeno s fungicidi	Renan		S. žitarka		Bastide		Incisif		Average:	
PČ										
Vse frakcije skupaj	933	Aab*	2548	Acb	1137	Aba	3189	Adb	1952	Ab
Frakcija 2,0–2,4 mm										
KČ	988	Aa	2456	Acb	1235	Aba	3420	Ade	2024	Ab
R DON con. KČ/PČ	+5,9	Aab	-3,6	Bb	+8,6	Ba	+7,2	Aa	+3,7	A
Frakcija > 2,4 mm										
KČ	565	Aaa	2013	Aca	1045	Aba	2316	Aca	1485	Aa
Relativna vsebnost										
KČ/PČ	-39,4	Ac	-20,9	Ac	-8,0	Aa	-27,3	Ab	-23,9	A
DON brez FHB s.	490	Aa	930	Ab	970	Ab	1070	Ab	940	A
Brez fungicidov:										
PČ										
Vse frakcije skupaj	2425	Bac	3065	Bbb	2878	Bab	4023	Bcb	2911	Bb
Frakcija 2,0–2,4 mm										
KČ	2139	Bab	3918	Bcc	2907	Bbb	4263	Bdb	3307	Bb
R DON con. KČ/PČ	-11,8	Ba	+27,8	Ab	+1,0	Ab	+5,9	Ab	+13,3	B
Frakcija > 2,4 mm										
KČ	975	Baa	2006	Aba	2207	Bba	3258	Bca	2111	Ba
R DON con. KČ/PČ	-59,8	Bc	-34,5,6	Ab	-23,3	Ba	-19,1	Aa	-27,4	B
DON brez FHB s.	570	Ba	1030	Ab	1350	Bc	1140	Abc	1022	A

* Velike črke služijo za primerjavo med parametri s fungicidom škropljenih in neškropljenih parcelic z uporabo t-testa ($P < 0,05$). Majhne črke služijo za primerjavo specifičnih parametrov med pšeničnimi kultivarji in majhne poudarjene črke za primerjavo parametrov pred in po čiščenju z uporabo Tukey HSD-testa ($P < 0,05$). Vse vrednosti so povprečje osmih vrednotenj. Vrednosti, označene z enakimi črkami, se signifikantno ne razlikujejo glede na uporabljen test.

Legenda:

R DON con. KČ/PČ – vsebnost DON po čiščenju relativno na vsebnost DON pred čiščenjem.

R DON con. KČ/PČ = $100 - ((\text{KČ}/\text{PČ}) * 100) (\pm \%)$.

DON brez FHB s. – zrnje iz frakcije >2,4 mm brez vidnih FHB-simptomov.

Preglednica 12: Vsebnost DON v zrnju ($\mu\text{g}/\text{kg}$) pred čiščenjem (PČ) in po čiščenju (KČ), v dveh velikostnih frakcijah zrnja štirih pšeničnih kultivarjev s parcel, škropljenih in neškropljenih s fungicidi. Lokacija Jablje

Table 12: DON content in grain ($\mu\text{g}/\text{kg}$) before cleaning (PČ) and after cleaning (KČ) in two grain size fractions of four wheat cultivars in plots treated and untreated with fungicides. Location Jablje

Škropljeno s fungicidi	Renan		S. žitarka		Bastide		Incisif		Povprečje	
PČ										
Vse frakcije skupaj	557	Aac*	1289	Abb	1151	Aba	2837	Acc	1458	Ac
Frakcija 2,0–2,4 mm										
KČ	472	Aab	1015	Abb	1121	Aba	2216	Acb	1206	Ab
R DON con. KČ/PČ	-15,3	Ab	-21,3	Bc	-2,6	Aa	-21,9	Bc	-17,3	B
Frakcija > 2,4 mm										
KČ	188	Aaa	881	Aba	1043	Aca	1435	Ada	887	Aa
Relativna vsebnost										
KČ/PČ	-66,2	Ad	-31,7	Ab	-9,4	Ac	-49,4	Ac	-39,2	A
DON brez FHB s.	160	Aa	420	Ab	870	Ac	905	Ac	589	A
Brez fungicidov:										
BC										
Vse frakcije skupaj	1855	Bab	2454	Bbc	1910	Bab	2908	Acc	2282	Ac
Frakcija 2,0–2,4 mm										
KČ	1730	Bab	2287	Bbb	1560	Baa	2499	Abb	2019	Bb
R DON con. KČ/PČ	-6,7	Ba	-6,8	Aa	-18,3	Bb	-14,1	Ab	-11,5	A
Frakcija > 2,4 mm										
KČ	524	Baa	1134	Bba	1290	Aba	1231	Aba	1045	Ba
R DON con. KČ/PČ	-71,8	Ac	-53,8	Bb	-32,5	Ba	-57,7	Bb	-54,2	B
DON brez FHB s.	220	Aa	570	Bb	920	Ac	980	Bc	672	B

* Velike črke služijo za primerjavo med parametri s fungicidom škropljenih in neškropljenih parcelic z uporabo t-testa ($P < 0,05$). Majhne črke služijo za primerjavo specifičnih parametrov med pšeničnimi kultivarji in majhne poudarjene črke za primerjavo parametrov pred in po čiščenju z uporabo Tukey HSD-testa ($P < 0,05$). Vse vrednosti so povprečje osmih vrednotenj. Vrednosti, označene z enakimi črkami, se signifikantno ne razlikujejo glede na uporabljen test.

Legenda:

R DON con. KČ/PČ – vsebnost DON po čiščenju relativno na vsebnost DON pred čiščenjem.

R DON con. KČ/PČ = $100 - ((\text{KČ}/\text{BPČ}) * 100) (\pm \%)$.

DON brez FHB s. – zrnje iz frakcije > 2,4 mm brez vidnih FHB-simptomov.

4.2.1 Razprava o rezultatih vsebnosti DON v različnih velikostnih frakcijah zrnja in ocenjevanje zrnja po različnih simptomih okužb

Podatki o vsebnosti DON v različnih velikostnih frakcijah zrnja glede na izražanje simptomov okužb so prikazani v preglednicah 11 in 12. Postopek čiščenja je zmanjšal delež mikotoksinov, različno glede na posamezne kultivarje in glede na uporabo fungicidov. Kot prvo smo opazili, da je bilo zmanjševanje DON pri frakciji F1 (>2,4 mm) v povprečju večje pri poskusih z neškropljenih parcelic (Maribor F1 37,7 %, Jablje F1 53,9 %) kot pri poskusih z aplikacijo fungicidov (Maribor F1 28,6 %, Jablje F1 39,2 %). V poskusih na lokaciji v Mariboru je bilo največje zmanjšanje DON zaradi čiščenja opaženo pri zmerno tolerantnem kultivarju Renan (39,7–71,8 %) in pri zmerno občutljivem kultivarju Žitarka (31,7–53,8 %). Pri poskusih v Jabljah je bilo največje zmanjšanje opaženo pri kultivarju Renan (66,2–71,8 %) ter drugo največje pri sorti Incisif (49,4–57,7 %).

Končna vsebnost DON je pri očiščenem zrnju zelo jasno nakazovala razlike med samimi sortami. V poskusih v Jabljah je bila najnižja stopnja DON določena pri sorti Renan (188 µg/kg za F1- in 472 µg/kg za F2-kategorijo zrnja). Zrnje sorte Renan je glede na to primerno za mletje v polnozrnato moko. Tolerantna sorta Bastide je pokazala popolnoma drugačen rezultat, kjer je bila v smislu odpornosti (ocene FHB, FDK) in po manjših izgubah pridelka veliko boljša od sorte Renan, vendar je na koncu zaradi slabše sposobnosti čiščenja zrnja vsebovalo zrnje velikosti F1 in F2 več DON (1043 µg/kg za F1 in 1121 µg/kg za F2 kategorijo). Zrnje sorte Bastide iz tega poskusa ni bilo primerno za predelavo v polnozrnato moko, ker pri postopku proizvodnje polnozrnate moke ne moremo nadalje zmanjšati vsebnosti mikotoksinov (ni mlevskega odpada). Primerljiv rezultat je bil pri mariborskem poskusu. Zrnje sorte Renan je bilo primerno za predelavo v polnozrnato moko, zrnje ostalih sort pa ne. V primeru sorte Super žitarka smo imeli obsežne fuzarijske okužbe, vendar relativno veliko učinkovitost čiščenja. Čiščenje je uspešno odstranilo okuženo zrnje in na koncu v očiščenem zrnju ni bilo tako dosti mikotoksina, kljub temu da je bilo zrnje ob žetvi videti močno okuženo. Pri sorti Bastide smo imeli majhno okužbo na

njivi, vendar tudi majhno učinkovitost čiščenja. Pri sorti Incisif je bila okužba tako izrazita, da nobena frakcija ni bila primerna za mletje v polnozrnato moko.

Med določanjem stopnje izražanja fuzarijskih bolezni na zrnih smo ročno odbrali in zatehtali 100 g zrnja F1 frakcije (>2,4 mm) (zrnje brez vidnih znamenj okužb s fuzariozami, v preglednicah 9 in 10 označeno kot Brez FHB). V preglednicah 11 in 12 so podatki prikazani pod oznako DON brez FHB. Opazimo lahko, da je bila v mariborskem poskusu najnižja vsebnost DON določena pri sorti Renan in da vsebnosti, določene pri sorti Bastide (970 in 1350 µg/kg) niso bile signifikantno nižje od vrednosti, določene pri sorti Incisif (1070 in 1140 µg/kg). Ta rezultat je bil presenetljiv za nas, posebej če upoštevamo začetno vsebnost DON pred čiščenjem, ki je bila skoraj dvakrat višja pri občutljivi sorti Incisif kakor pri tolerantni sorti Bastide. Podobni rezultati so bili pri poskusu v Jabljah. Tudi tu je bila določena najnižja vsebnost DON pri sorti Renan in najvišja pri sorti Incisif. Razlike med vsebnostjo DON pri sorti Bastide (870 in 920 µg/kg) in Incisif (905 in 980 µg/kg) niso bile statistično značilne. Ta rezultat potrjuje našo hipotezo, da obstajajo sorte, ki so tolerantne na primarne okužbe s fuzariozami in ne utrpijo značilnih deformacij tkiva zaradi okužb. Zrnje takih sort lahko na zunaj izgleda skoraj povsem zdravo, vendar vsebuje relativno visoke vsebnosti DON.

Frakcionirana porazdelitev DON v zrnju pšenice je dobro poznana in raziskana s strani mnogih raziskovalcev (Scott s sod. 1983, Scott s sod. 1984, Young s sod. 1984, Abbas s sod. 1985, Seitz s sod. 1986, Lee s sod. 1987, Nowicki s sod. 1988, Trigo-Stockli s sod. 1996, Larsen s sod. 2004, Hazel in Patel 2004, Visconti s sod. 2004, Railiene s sod. 2005, Jouany 2007, Naresh in Aldred 2007, Bullerman in Bianchini 2007, Gärtner s sod. 2007, Palpacelli s sod. 2007, Kushiro 2008) in smo jo potrdili tudi v naši raziskavi. Rezultati naše raziskave v tem parametru ne odstopajo od drugih raziskav. Dejstvo, da agrotehnika pridelave (Champeil s sod. 2004, Jouany s sod. 2007) ter sortne značilnosti (odpornost oziroma tolerantnost) (Mesterházy 2003) vplivajo na vsebnost DON smo potrdili tudi v naši raziskavi.

V našem poskusu so bile vsebnosti DON večje pri neuporabi fungicidov v primerjavi s vsebnostmi pri uporabi fungicidov, kar je primerljivo z rezultati raziskave Champeila s sodelavci (2004), ampak pri določenih sortah po posameznih frakcijah ni bilo statističnih razlik med zrnjem iz pridelave z uporabo fungicidov ter brez fungicidov (preglednici 11 in 12).

Postopki čiščenja so v različnih raziskavah pokazali različne učinke na zmanjševanje vsebnosti DON, vendar v nobenem primeru niso rezultirali s popolno odstranitvijo toksinov (Bullerman in Bianchini 2007, Lancova s sod. 2008, Kushiro 2008). Na zmožnost čiščenja so tudi v njihovem primeru vplivale sortne značilnosti. Sorte, ki so dovzetne za okužbe, imajo izrazitejša bolezenska znamenja na zrnju in okuženo zrnje je tako mogoče lažje odstraniti (Nowicki s sod. 1988, Chelkowski in Perkowski 1992, Kushiro 2008). Sorte, ki so tolerantnejše na okužbe s fuzariozami, imajo več zrnja brez bolezenskih znamenj, ki jih je težje odstraniti s tradicionalnimi postopi čiščenja, in tako lahko pri njih prihaja do manjšega učinka čiščenja na zmanjševanje vsebnosti DON. V našem poskusu smo pri sortah, ki so tolerantnejše na fuzarioze, opazili manjšo učinkovitost postopkov čiščenja na zmanjševanje vsebnosti DON.

Raziskav, ki bi neposredno obravnavale sorte, ki smo jih mi vključili v poskus, pri našem pregledu literature nismo zaznali. Zato ne moremo opraviti neposrednih primerjav naših rezultatov z drugimi rezultati.

4.3 Rezultati analize regresijske povezave med stopnjo okuženosti klasov s fuzariozami (% FHB) oziroma deležem s fuzariozami okuženih zrn (% FDK) in vsebnostjo DON ($\mu\text{g/kg}$) v različnih frakcijah zrnja

Preglednica 13: Prikaz tesnosti linearne povezave (dk – determinacijski koeficient) med ocenjeno stopnjo okuženosti klasov s fuzariozami (% FHB) oziroma deležem s fuzariozami okuženih zrn (% FDK) in vsebnostjo DON ($\mu\text{g/kg}$) v različnih frakcijah zrnja pred in po čiščenju. Sorta Renan, lokacija Maribor

Table 13: Tightness of the linear relationship (dk – coefficient of determination) between the estimated rate of wheat heads infections with FHB (% FHB) or percentage of infected kernels (% FDK) and DON content ($\mu\text{g/kg}$) in different grain fractions before and after treatment. Variety Renan, location Maribor

	Z uporabo fungicidov:	Brez uporabe fungicidov:
SORTA RENAN		
	DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi Pov. = 932,5 $\mu\text{g/kg}$	DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi Pov. = 2425 $\mu\text{g/kg}$
FHB	Don = 462,6 + 32,7 * Fhb, dk = 0,98 $R^2 = 0,96$, Standardna napaka = 25,4	Don = 484,4 + 81,2 * Fhb, dk = 0,96 $R^2 = 0,93$, Standardna napaka = 91,8
FDK	Don = 628,1 + 18,1 * Fdk, dk = 0,95 $R^2 = 0,90$, Standardna napaka = 39,8	Don = 774,2 + 73,2 * Fdk, dk = 0,96 $R^2 = 0,92$, Standardna napaka = 96,7
	DON v AC1-frakciji po čiščenju Pov. = 988 $\mu\text{g/kg}$	DON v AC1-frakciji po čiščenju Pov. = 2139,25 $\mu\text{g/kg}$
FHB	Don = -214,1 + 83,8 * Fhb, dk = 0,88 $R^2 = 0,77$, Standardna napaka = 178,0	Don = -1283,9 + 143,2 * Fdk, dk = 0,88 $R^2 = 0,78$, Standardna napaka = 312,7
FDK	Don = 318,7 + 39,8 * Fdk, dk = 0,73 $R^2 = 0,53$, Standardna napaka = 253,8	Don = -938,1 + 136,5 * Fdk, dk = 0,93 $R^2 = 0,87$, Standardna napaka = 243,8
	DON v AC2-frakciji po čiščenju Pov. = 565 $\mu\text{g/kg}$	DON v AC2-frakciji po čiščenju Pov. = 974,75 $\mu\text{g/kg}$
FHB	Don = 192,8 + 25,9 * Fhb, dk = 0,78 $R^2 = 0,60$, Standardna napaka = 81,8	Don = 522,4 + 18,9 * Fhb, dk = 0,65 $R^2 = 0,43$, Standardna napaka = 90,7
FDK	Don = 287,4 + 16,5 * Fdk, dk = 0,87 $R^2 = 0,76$, Standardna napaka = 64,1	Don = 574,6 + 17,7 * Fdk, dk = 0,68 $R^2 = 0,46$, Standardna napaka = 88,17
	DON v zrnih brez znamenj okužbe Pov. = 489,75 $\mu\text{g/kg}$	DON v zrnih brez znamenj okužbe Pov. = 570 $\mu\text{g/kg}$
FHB	Don = 210,2 + 19,5 * Fhb, dk = 0,88 $R^2 = 0,77$, Standardna napaka = 41,5	Don = 1054 - 20,2 * Fhb, dk = 0,51 $R^2 = 0,26$, Standardna napaka = 142,2
FDK	Don = 357,9 + 7,8 * Fdk, dk = 0,62 $R^2 = 0,39$, Standardna napaka = 68,1	Don = 1115,4 - 24,2 * Fdk, dk = 0,67 $R^2 = 0,45$, Standardna napaka = 122,3

Preglednica 14: Prikaz tesnosti linearne povezave (dk – determinacijski koeficient) med ocenjeno stopnjo okuženosti klasov s fuzariozami (% FHB) oziroma deležem s fuzariozami okuženih zrn (% FDK) in vsebnostjo DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v različnih frakcijah zrnja pred in po čiščenju. Sorta Super žitarka, lokacija Maribor

Table 14: Tightness of the linear relationship (dk – coefficient of determination) between the estimated rate of wheat heads infections with FHB (% FHB) or percentage of infected kernels (% FDK) and DON content ($\mu\text{g}/\text{kg}$) in different grain fractions before and after treatment. Variety Super žitarka, location Maribor

	Z uporabo fungicidov	Brez uporabe fungicidov
SORTA SUPER ŽITARKA		
	DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi Pov. = 3372,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$	DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi Pov. = 3787 $\mu\text{g}/\text{kg}$
FHB	Don = 2432,1 + 39,7 * Fhb, dk = 0,73 $R^2 = 0,54$, Standardna napaka = 107,0	Don = 1157,4 + 71,3 * Fhb, dk = 0,22 $R^2 = 0,05$, Standardna napaka = 993,2
FDK	Don = 2613,4 + 28,6 * Fdk, dk = 0,36 $R^2 = 0,13$, Standardna napaka = 147,5	Don = -1679,6 + 159,8 * Fdk, dk = 0,87 $R^2 = 0,75$, Standardna napaka = 503,0
	DON v AC1-frakciji po čiščenju Pov. = 2456 $\mu\text{g}/\text{kg}$	DON v AC1-frakciji po čiščenju Pov. = 3918 $\mu\text{g}/\text{kg}$
FHB	Don = -983,7 + 154,1 * Fhb, dk = 0,99 $R^2 = 0,99$, Standardna napaka = 23,2	Don = 1359 + 69,3 * Fhb, dk = 0,29 $R^2 = 0,08$, Standardna napaka = 718
FDK	Don = -2619,1 + 191,1 * Fdk, dk = 0,88 $R^2 = 0,78$, Standardna napaka = 198,5	Don = -300 + 123,3 * Fdk, dk = 0,91 $R^2 = 0,83$, Standardna napaka = 310,5
	DON v AC2-frakciji po čiščenju Pov. = 2013 $\mu\text{g}/\text{kg}$	DON v AC2-frakciji po čiščenju Pov. = 2005,75 $\mu\text{g}/\text{kg}$
FHB	Don = 1253,8 + 32 * Fhb, dk = 0,72 $R^2 = 0,52$, Standardna napaka = 90,4	Don = 858,4 + 31,1 * Fhb, dk = 0,60 $R^2 = 0,35$, Standardna napaka = 131,8
FDK	Don = 1415,5 + 22,3 * Fdk, dk = 0,34 $R^2 = 0,11$, Standardna napaka = 122,6	Don = 1295,9 + 20,7 * Fdk, dk = 0,70 $R^2 = 0,49$, Standardna napaka = 116,9
	DON v zrnih brez znamenj okužbe Pov. = 930 $\mu\text{g}/\text{kg}$	DON v zrnih brez znamenj okužbe Pov. = 1029,75 $\mu\text{g}/\text{kg}$
FHB	Don = 491,3 + 18,5 * Fhb, dk = 0,85 $R^2 = 0,72$, Standardna napaka = 33,8	Don = -1117,4 + 58,2 * Fhb, dk = 0,87, $R^2 = 0,75$, Standardna napaka = 104,5
FDK	Don = 474,9 + 17,1 * Fdk, dk = 0,53 $R^2 = 0,28$, Standardna napaka = 54,2	Don = 812,2 + 6,4 * Fdk, dk = 0,17 $R^2 = 0,03$, Standardna napaka = 207,3

Preglednica 15: Prikaz tesnosti linearne povezave (dk – determinacijski koeficient) med ocenjeno stopnjo okuženosti klasov s fuzariozami (% FHB) oziroma deležem s fuzariozami okuženih zrn (% FDK) in vsebnostjo DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v različnih frakcijah zrnja pred in po čiščenju. Sorta Bastide, lokacija Maribor

Table 15: Tightness of the linear relationship (dk – coefficient of determination) between the estimated rate of wheat heads infections with FHB (% FHB) or percentage of infected kernels (% FDK) and DON content ($\mu\text{g}/\text{kg}$) in different grain fractions before and after treatment. Variety Bastide, location Maribor

	Z uporabo fungicidov	Brez uporabe fungicidov
SORTA BASTIDE		
	DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi Pov. = 1136,75 $\mu\text{g}/\text{kg}$	DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi Pov. = 2877,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$
FHB	Don = 1182,1 – 3,6 * Fhb, dk = 0,35 $R^2 = 0,16$, Standardna napaka = 21,3	Don = 1998,2 + 57,8 * Fhb, dk = 0,40 $R^2 = 0,16$, Standardna napaka = 182,0
FDK	Don = 1149,35 – 1,5 * Fdk, dk = 0,15 $R^2 = 0,02$, Standardna napaka = 22,3	Don = 3236,8 – 25,1 * Fdk, dk = 0,23 $R^2 = 0,05$, Standardna napaka = 153,7
	DON v AC1-frakciji po čiščenju Pov. = 1235 $\mu\text{g}/\text{kg}$	DON v AC1-frakciji po čiščenju Pov. = 2906,75 $\mu\text{g}/\text{kg}$
FHB	Don = 1154,1 + 6,5 * Fhb, dk = 0,15 $R^2 = 0,02$, Standardna napaka = 94,8	Don = 2941,8 – 2,30 * Fhb, dk = 0,01 $R^2 = 0,0$, Standardna napaka = 236,8
FDK	Don = 985,8 + 29,6 * Fdk, dk = 0,70 $R^2 = 0,49$, Standardna napaka = 68,2	Don = 2462,5 + 31,0 * Fdk, dk = 0,24 $R^2 = 0,06$, Standardna napaka = 230
	DON v AC2-frakciji po čiščenju Pov. = 1044,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$	DON v AC2-frakciji po čiščenju Pov. = 2207,25 $\mu\text{g}/\text{kg}$
FHB	Don = 430,6 + 49,3 * Fhb, dk = 0,39 $R^2 = 0,15$, Standardna napaka = 259,3	Don = -176,3 + 156,8 * Fhb, dk = 0,46 $R^2 = 0,21$, Standardna napaka = 422,2
FDK	Don = 225,6 + 97,2 * Fdk, dk = 0,79 $R^2 = 0,62$, Standardna napaka = 173,5	Don = 3287,8 – 75,4 * Fdk, dk = 0,29 $R^2 = 0,08$, Standardna napaka = 454,9
	DON v zrnih brez znamenj okužbe Pov. = 970,25 $\mu\text{g}/\text{kg}$	DON v zrnih brez znamenj okužbe Pov. = 1350 $\mu\text{g}/\text{kg}$
FHB	Don = 1504,8 – 42,9 * Fhb, dk = 0,65 $R^2 = 0,42$, Standardna napaka = 111,3	Don = 4004,1 – 174,6* Fhb, dk = 0,96 $R^2 = 0,91$, Standardna napaka = 73,9
FDK	Don = 1268,8 – 35,4 * Fdk, dk = 0,55 $R^2 = 0,30$, Standardna napaka = 121,8	Don = -416,9 + 123,3 * Fdk, dk = 0,88 $R^2 = 0,78$, Standardna napaka = 118,5

Preglednica 16: Prikaz tesnosti linearne povezave (dk – determinacijski koeficient) med ocenjeno stopnjo okuženosti klasov s fuzariozami (% FHB) oziroma deležem s fuzariozami okuženih zrn (% FDK) in vsebnostjo DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v različnih frakcijah zrnja pred in po čiščenju. Sorta Incisif, lokacija Maribor

Table 16: Tightness of the linear relationship (dk – coefficient of determination) between the estimated rate of wheat heads infections with FHB (% FHB) or percentage of infected kernels (% FDK) and DON content ($\mu\text{g}/\text{kg}$) in different grain fractions before and after treatment. Variety Incisif, location Maribor

	Z uporabo fungicidov	Brez uporabe fungicidov
SORTA INCISIF		
	DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi Pov. = 3188,66 $\mu\text{g}/\text{kg}$	DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi Pov. = 4084 $\mu\text{g}/\text{kg}$
FHB	Don = $-160,1 + 109,4 * \text{Fhb}$, dk = 0,95 $R^2 = 0,90$, Standardna napaka = 177,3	Don = $-534,5 + 108 * \text{Fhb}$, dk = 0,48 $R^2 = 0,23$, Standardna napaka = 736,8
FDK	Don = $-1079,2 + 140 * \text{Fdk}$, dk = 0,89 $R^2 = 0,79$, Standardna napaka = 264,6	Don = $1469,8 + 69,2 * \text{Fdk}$, dk = 0,27 $R^2 = 0,07$, Standardna napaka = 809,3
	DON v AC1-frakciji po čiščenju Pov. = 3420,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$	DON v AC1-frakciji po čiščenju Pov. = 4262,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$
FHB	Don = $3078,8 + 11,1 * \text{Fhb}$, dk = 0,96 $R^2 = 0,93$, Standardna napaka = 15,1	Don = $-3396,6 + 179,2 * \text{Fhb}$, dk = 0,84 $R^2 = 0,71$, Standardna napaka = 430,9
FDK	Don = $3120,7 + 9,8 * \text{Fdk}$, dk = 0,62 $R^2 = 0,38$, Standardna napaka = 45,4	Don = $899,8 + 89 * \text{Fdk}$, dk = 0,36 $R^2 = 0,13$, Standardna napaka = 741,3
	DON v AC2-frakciji po čiščenju Pov. = 2316,39 $\mu\text{g}/\text{kg}$	DON v AC2-frakciji po čiščenju Pov. = 3258,25 $\mu\text{g}/\text{kg}$
FHB	Don = $1825,8 + 16 * \text{Fhb}$, dk = 0,37 $R^2 = 0,14$, Standardna napaka = 198,6	Don = $-10553,5 + 323,1 * \text{Fhb}$, dk = 0,73, $R^2 = 0,53$, Standardna napaka = 1136,2
FDK	Don = $792,6 + 50 * \text{Fdk}$, dk = 0,85 $R^2 = 0,73$, Standardna napaka = 111,7	Don = $1084,5 + 57,5 * \text{Fdk}$, dk = 0,11 $R^2 = 0,01$, Standardna napaka = 1647,7
	DON v zrnih brez znamenj okužbe Pov. = 170,15 $\mu\text{g}/\text{kg}$	DON v zrnih brez znamenj okužbe Pov. = 1140 $\mu\text{g}/\text{kg}$
FHB	Don = $-305,1 + 15,5 * \text{Fhb}$, dk = 0,95 $R^2 = 0,90$, Standardna napaka = 26,4	Don = $1014,3 + 2,9 * \text{Fhb}$, dk = 0,13 $R^2 = 0,02$, Standardna napaka = 86,9
FDK	Don = $-481, + 21,4 * \text{Fdk}$, dk = 0,95 $R^2 = 0,91$, Standardna napaka = 25,2	Don = $426,4 + 18,9 * \text{Fdk}$, dk = 0,70 $R^2 = 0,49$ Standardna napaka = 62,5

Preglednica 17: Prikaz tesnosti linearne povezave (dk – determinacijski koeficient) med ocenjeno stopnjo okuženosti klasov s fuzariozami (% FHB) oziroma deležem s fuzariozami okuženih zrn (% FDK) in vsebnostjo DON ($\mu\text{g/kg}$) v različnih frakcijah zrnja pred in po čiščenju. Sorta Renan, lokacija Jablje

Table 17: Tightness of the linear relationship (dk – coefficient of determination) between the estimated rate of wheat heads infections with FHB (% FHB) or percentage of infected kernels (% FDK) and DON content ($\mu\text{g/kg}$) in different grain fractions before and after treatment. Variety Renan, location Jablje

	Z uporabo fungicidov:	Brez uporabe fungicidov:
SORTA RENAN		
	DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi Pov. = 557,25 $\mu\text{g/kg}$	DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi Pov. = 1885 $\mu\text{g/kg}$
FHB	Don = 368,5 + 27,3 * Fhb, dk = 0,83 $R^2 = 0,68$, Standardna napaka = 70,2	Don = 13,6 + 158,3 * Fhb, dk = 0,99 $R^2 = 0,99$, Standardna napaka = 35,1
FDK	Don = 171,9 + 31,3 * Fdk, dk = 0,90 $R^2 = 0,81$, Standardna napaka = 54,7	Don = 148,1 + 93,9 * Fdk, dk = 0,99 $R^2 = 0,98$, Standardna napaka = 56,9
	DON v AC1-frakciji po čiščenju Pov. = 472,25 $\mu\text{g/kg}$	DON v AC1-frakciji po čiščenju Pov. = 1729,5 $\mu\text{g/kg}$
FHB	Don = 308,0 + 23,8 * Fhb, dk = 0,70 $R^2 = 0,49$, Standardna napaka = 92,2	Don = 58,7 + 141,3 * Fhb, dk = 0,99 $R^2 = 0,98$, Standardna napaka = 46,5
FDK	Don = 44,3 + 34,8 * Fdk, dk = 0,97 $R^2 = 0,94$, Standardna napaka = 32,3	Don = 172,7 + 84,2 * Fdk, dk = 0,99 $R^2 = 0,98$, Standardna napaka = 53,2
	DON v AC2-frakciji po čiščenju Pov. = 187,5 $\mu\text{g/kg}$	DON v AC2-frakciji po čiščenju Pov. = 523,5 $\mu\text{g/kg}$
FHB	Don = 97,3 + 13,1 * Fhb, dk = 0,41 $R^2 = 0,94$, Standardna napaka = 32,3	Don = -913,7 + 121,5 * Fhb, dk = 0,83 $R^2 = 0,70$, Standardna napaka = 194,8
FDK	Don = -186,8 + 30,4 * Fdk, dk = 0,92 $R^2 = 0,84$, Standardna napaka = 47,6	Don = -865,2 + 75,1 * Fdk, dk = 0,86 $R^2 = 0,74$, Standardna napaka = 178,6
	DON v zrnih brez znamenj okužbe Pov. = 160,25 $\mu\text{g/kg}$	DON v zrnih brez znamenj okužbe Pov. = 220,25 $\mu\text{g/kg}$
FHB	Don = 45,6 + 16,6 * Fhb, dk = 0,97 $R^2 = 0,94$, Standardna napaka = 15,7	Don = -26,1 + 20,8 * Fhb, dk = 0,77 $R^2 = 0,60$, Standardna napaka = 41,6
FDK	Don = 64,5 + 7,8 * Fdk, dk = 0,43 $R^2 = 0,19$, Standardna napaka = 58,3	Don = -5,4 + 12,2 * Fdk, dk = 0,76 $R^2 = 0,57$, Standardna napaka = 42,8

Preglednica 18: Prikaz tesnosti linearne povezave (dk – determinacijski koeficient) med ocenjeno stopnjo okuženosti klasov s fuzariozami (% FHB) oziroma deležem s fuzariozami okuženih zrn (% FDK) in vsebnostjo DON ($\mu\text{g/kg}$) v različnih frakcijah zrnja pred in po čiščenju. Sorta Super žitarka, lokacija Jablje

Table 18: Tightness of the linear relationship (dk – coefficient of determination) between the estimated rate of wheat heads infections with FHB (% FHB) or percentage of infected kernels (% FDK) and DON content ($\mu\text{g/kg}$) in different grain fractions before and after treatment. Variety Super žitarka, location Jablje

	Z uporabo fungicidov	Brez uporabe fungicidov
SORTA SUPER ŽITARKA		
	DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi Pov. = 1288,71 $\mu\text{g/kg}$	DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi Pov. = 2453,77 $\mu\text{g/kg}$
FHB	Don = $-1182,2 + 120,8 * \text{Fhb}$, dk = 0,97 $R^2 = 0,95$, Standardna napaka = 105,9	Don = $-4336,9 + 232,4 * \text{Fhb}$, dk = 0,75 $R^2 = 0,57$, Standardna napaka = 338,1
FDK	Don = $-261,5 + 72,0 * \text{Fdk}$, dk = 0,98 $R^2 = 0,97$, Standardna napaka = 79,7	Don = $-244,6 + 101,1 * \text{Fdk}$, dk = 0,55 $R^2 = 0,30$, Standardna napaka = 429,7
	DON v AC1-frakciji po čiščenju Pov. = 1014,77 $\mu\text{g/kg}$	DON v AC1-frakciji po čiščenju Pov. = 2287,11 $\mu\text{g/kg}$
FHB	Don = $154,4 + 42,1 * \text{Fhb}$, dk = 0,94 $R^2 = 0,88$, Standardna napaka = 58,1	Don = $-5437,3 + 264,3 * \text{Fhb}$, dk = 0,84 $R^2 = 0,70$, Standardna napaka = 284,1
FDK	Don = $490,0 + 24,4 * \text{Fdk}$, dk = 0,92 $R^2 = 0,85$, Standardna napaka = 64,1	Don = $-1241,9 + 132,2 * \text{Fdk}$, dk = 0,70 $R^2 = 0,50$, Standardna napaka = 372,7
	DON v AC2-frakciji po čiščenju Pov. = 780,85 $\mu\text{g/kg}$	DON v AC2-frakciji po čiščenju Pov. = 1133,79 $\mu\text{g/kg}$
FHB	Don = $-374,9 + 56,5 * \text{Fhb}$, dk = 0,98 $R^2 = 0,95$, Standardna napaka = 46,6	Don = $-6521,2 + 261,9 * \text{Fhb}$, dk = 0,94 $R^2 = 0,89$, Standardna napaka = 153,5
FDK	Don = $55,0 + 33,7 * \text{Fdk}$, dk = 0,99 $R^2 = 0,98$, Standardna napaka = 31,8	Don = $-3127,6 + 159,6 * \text{Fdk}$, dk = 0,96 $R^2 = 0,92$, Standardna napaka = 128,6
	DON v zrnih brez znamenj okužbe Pov. = 420,25 $\mu\text{g/kg}$	DON v zrnih brez znamenj okužbe Pov. = 570 $\mu\text{g/kg}$
FHB	Don = $-325,4 + 36,5 * \text{Fhb}$, dk = 0,99 $R^2 = 0,99$, Standardna napaka = 13,6	Don = $1453 - 30,2 * \text{Fhb}$, dk = 0,64 $R^2 = 0,41$, Standardna napaka = 60
FDK	Don = $-44 + 21,6 * \text{Fdk}$, dk = 0,99 $R^2 = 0,99$, Standardna napaka = 4,5	Don = $855,3 - 10,7 * \text{Fdk}$, dk = 0,38 $R^2 = 0,14$, Standardna napaka = 72,4

Preglednica 19: Prikaz tesnosti linearne povezave (dk – determinacijski koeficient) med ocenjeno stopnjo okuženosti klasov s fuzariozami (% FHB) oziroma deležem s fuzariozami okuženih zrn (% FDK) in vsebnostjo DON ($\mu\text{g/kg}$) v različnih frakcijah zrnja pred in po čiščenju. Sorta Bastide, lokacija Jablje

Table 19: Tightness of the linear relationship (dk – coefficient of determination) between the estimated rate of wheat heads infections with FHB (% FHB) or percentage of infected kernels (% FDK) and DON content ($\mu\text{g/kg}$) in different grain fractions before and after treatment. Variety Bastide, location Jablje

	Z uporabo fungicidov	Brez uporabe fungicidov
SORTA BASTIDE		
	DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi Pov. = 1151,16 $\mu\text{g/kg}$	DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi Pov. = 1910,4 $\mu\text{g/kg}$
FHB	Don = 1266 – 20,2 * Fhb, dk = 0,05 $R^2 = 0,01$, Standardna napaka = 493,2	Don = 2765,2 – 94,9 * Fhb, dk = 0,29 $R^2 = 0,08$, Standardna napaka = 444,2
FDK	Don = 2110,9 – 92,1 * Fdk, dk = 0,41 $R^2 = 0,17$, Standardna napaka = 450,6	Don = 2296,4 – 26,8 * Fdk, dk = 0,18 $R^2 = 0,03$, Standardna napaka = 456,5
	DON v AC1-frakciji po čiščenju Pov. = 1121,44 $\mu\text{g/kg}$	DON v AC1-frakciji po čiščenju Pov. = 1559,64 $\mu\text{g/kg}$
FHB	Don = 906,5 + 37,9 * Fhb, dk = 0,55 $R^2 = 0,30$, Standardna napaka = 77,4	Don = 1942,7 – 42,7 * Fhb, dk = 0,21 $R^2 = 0,04$, Standardna napaka = 277,6
FDK	Don = 996,3 + 12,0 * Fdk, dk = 0,28 $R^2 = 0,08$, Standardna napaka = 88,9	Don = 869,8 + 47,8 * Fdk, dk = 0,52 $R^2 = 0,27$, Standardna napaka = 242,3
	DON v AC2-frakciji po čiščenju Pov. = 1043,39 $\mu\text{g/kg}$	DON v AC2-frakciji po čiščenju Pov. = 1289,55 $\mu\text{g/kg}$
FHB	Don = 819,9 + 39,4 * Fhb, dk = 0,17 $R^2 = 0,03$, Standardna napaka = 306,7	Don = 2741,7 – 161,3 * Fhb, dk = 0,38 $R^2 = 0,15$, Standardna napaka = 548,6
FDK	Don = 2066 – 98,1 * Fdk, dk = 0,69 $R^2 = 0,48$, Standardna napaka = 224,4	Don = 2365 – 74,5 * Fdk, dk = 0,39 $R^2 = 0,15$, Standardna napaka = 547,2
	DON v zrnih brez znamenj okužbe Pov. = 870 $\mu\text{g/kg}$	DON v zrnih brez znamenj okužbe Pov. = 920 $\mu\text{g/kg}$
FHB	Don = 912 – 7,4 * Fhb, dk = 0,03 $R^2 = 0,0$, Standardna napaka = 363	Don = 295,8 + 69,3 * Fhb, dk = 0,47 $R^2 = 0,22$, Standardna napaka = 184,2
FDK	Don = 1631,3 – 73 * Fdk, dk = 0,44 $R^2 = 0,19$, Standardna napaka = 325,8	Don = 1166,8 – 17,1 * Fdk, dk = 0,25 $R^2 = 0,06$, Standardna napaka = 201,7

Preglednica 20: Prikaz tesnosti linearne povezave (dk – determinacijski koeficient) med ocenjeno stopnjo okuženosti klasov s fuzariozami (% FHB) oziroma deležem s fuzariozami okuženih zrn (% FDK) in vsebnostjo DON ($\mu\text{g/kg}$) v različnih frakcijah zrnja pred in po čiščenju. Sorta Incisif, lokacija Jablje

Table 20: Tightness of the linear relationship (dk – coefficient of determination) between the estimated rate of wheat heads infections with FHB (% FHB) or percentage of infected kernels (% FDK) and DON content ($\mu\text{g/kg}$) in different grain fractions before and after treatment. Variety Incisif, location Jablje

	Z uporabo fungicidov	Brez uporabe fungicidov
SORTA INCISIF		
	DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi Pov. = 2837,25 $\mu\text{g/kg}$	DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi Pov. = 2907,5 $\mu\text{g/kg}$
FHB	Don = 1820,9 + 56,8 * Fhb, dk = 0,99 $R^2 = 0,99$, Standardna napaka = 26,7	Don = -1097,8 + 140,5 * Fhb, dk = 0,80 $R^2 = 0,64$, Standardna napaka = 535
FDK	Don = 2259,3 + 25,5 * Fdk, dk = 0,93 $R^2 = 0,86$, Standardna napaka = 99,2	Don = -3945,5 + 230,3 * Fdk, dk = 0,84 $R^2 = 0,70$, Standardna napaka = 484,2
	DON v AC1-frakciji po čiščenju Pov. = 2215,75 $\mu\text{g/kg}$	DON v AC1-frakciji po čiščenju Pov. = 2499,25 $\mu\text{g/kg}$
FHB	Don = 890,8 + 74 * Fhb, dk = 0,78 $R^2 = 0,61$, Standardna napaka = 277,2	Don = -2866,3 + 188,3 * Fhb, dk = 0,75 $R^2 = 0,57$, Standardna napaka = 831,7
FDK	Don = 1534 + 30 * Fdk, dk = 0,66 $R^2 = 0,44$, Standardna napaka = 334,1	Don = -5842,6 + 280,4 * Fdk, dk = 0,72 $R^2 = 0,51$, Standardna napaka = 878,9
	DON v AC2-frakciji po čiščenju Pov. = 1435,25 $\mu\text{g/kg}$	DON v AC2-frakciji po čiščenju Pov. = 1231 $\mu\text{g/kg}$
FHB	Don = -245,2 + 93,9 * Fhb, dk = 0,91 $R^2 = 0,82$, Standardna napaka = 204,2	Don = -336,6 + 55 * Fhb, dk = 0,82 $R^2 = 0,66$, Standardna napaka = 196,8
FDK	Don = 322,1 + 49 * Fdk, dk = 0,99 $R^2 = 0,98$, Standardna napaka = 74,9	Don = -1611,7 + 95,5 * Fdk, dk = 0,91 $R^2 = 0,82$, Standardna napaka = 142,5
	DON v zrnih brez znamenj okužbe Pov. = 905,25 $\mu\text{g/kg}$	DON v zrnih brez znamenj okužbe Pov. = 980 $\mu\text{g/kg}$
FHB	Don = 314,7 + 33 * Fhb, dk = 0,97 $R^2 = 0,94$, Standardna napaka = 38	Don = 817,7 + 5,7 * Fhb, dk = 0,11 $R^2 = 0,01$, Standardna napaka = 247,1
FDK	Don = 539,6 + 16,1 * Fdk, dk = 0,99 $R^2 = 0,98$, Standardna napaka = 24,4	Don = -215,1 + 40,2 * Fdk, dk = 0,52 $R^2 = 0,27$, Standardna napaka = 212,1

4.3.1 Razprava o rezultatih analize regresijske povezave med stopnjo okuženosti klasov s fuzariozami (% FHB) oziroma deležem s fuzariozami okuženih zrn (% FDK) in vsebnostjo DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v različnih frakcijah zrnja

Kot je bilo pričakovano, se determinacijski koeficienti zelo razlikujejo med posameznimi sortami, načini tretiranja ter lokacijo. Tako je bila regresijska povezava med stopnjo okuženosti klasov s fuzariozami (% FHB) ter deležem s fuzariozami okuženih zrn (% FDK) pri sorti Renan na lokaciji Maribor večinoma zelo tesna (preglednica 13). Srednje tesna povezava je bila edino pri DON v zrnih brez znamenj okužbe (z uporabo fungicidov) pri FDK ($dk = 0,62$) ter pri neuporabi fungicidov FHB ($dk = 0,51$). Na lokaciji Jablje so pri tej sorti prav tako prevladovale tesne regresijske povezave, srednje tesne smo opazili edino pri FHB in DON v AC2-frakciji po čiščenju/uporaba fungicidov ($dk = 0,41$) ter FDK in DON v zrnih brez znamenj okužbe/uporaba fungicidov ($dk = 0,43$) (preglednica 17).

Sorta Super žitarka je na lokaciji Maribor imela močno regresijsko povezavo pri FHB z DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi/uporaba fungicidov, DON v AC1-frakciji po čiščenju/uporaba fungicidov, DON v AC2-frakciji po čiščenju/uporaba fungicidov in DON v zrnih brez znamenj okužbe/uporaba fungicidov/brez fungicidov ter pri FDK z DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi/brez fungicidov, DON v AC1-frakciji po čiščenju/uporaba fungicidov/brez fungicidov, DON v AC2-frakciji po čiščenju/brez fungicidov. Slaba regresijska povezava je bila med FHB in DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi/brez fungicidov ($dk = 0,22$) ter FDK in DON v zrnih brez znamenj okužbe/brez fungicidov ($dk = 0,17$). Pri ostalih parametrih so bile regresijske povezave srednje tesne (preglednica 14). Na lokaciji Jablje so pri sorti Super žitarka večinoma prevladovale tesne regresijske povezave (preglednica 18), srednje tesne povezave so bile opažene pri parametrih FHB in DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi/brez fungicidov ($dk = 0,55$), FHB in DON v zrnih brez znamenj okužbe/brez fungicidov ($dk = 0,64$) ter FDK in DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi/brez fungicidov ($dk = 0,55$) ter šibka pri FDK in DON v zrnih brez znamenj okužbe/brez fungicidov ($dk = 0,38$).

Sorta Bastide je na lokaciji Maribor izkazovala večinoma šibkejše regresijske povezave med parametri (preglednica 15). Tako smo jih zaznali pri FHB in DON v AC1-frakciji po čiščenju/uporaba fungicidov/brez fungicidov ($dk = 0,15$, $dk = 0,01$) ter pri FDK in DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi/uporaba fungicidov/brez fungicidov ($dk = 0,15$, $dk = 0,23$), FDK in DON v AC1-frakciji po čiščenju/brez fungicidov ($dk = 0,24$), FHB in DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi/uporaba fungicidov ($dk = 0,35$) ter FHB in DON v AC2-frakciji po čiščenju/uporaba fungicidov ($dk = 0,39$). Srednje tesne povezave so bile pri FHB in DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi/ brez fungicidov ($dk = 0,40$), FHB in DON v AC2-frakciji po čiščenju/brez fungicidov ($dk = 0,46$), šibka korelacija pri FDK in DON v AC2-frakciji po čiščenju/brez fungicidov ($dk = 0,29$) in srednje tesna FDK ter DON v zrnih brez znamenj okužbe/uporaba fungicidov ($dk = 0,55$). Ostali parametri so kazali tesne povezave (preglednica 15). Na lokaciji Jablje so bili pri sorti Bastide podobni rezultati (preglednica 19). Šibke regresijske povezave smo opazili pri FHB in DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi/uporaba fungicidov ($dk = 0,05$), FHB in DON v AC1-frakciji po čiščenju/brez fungicidov ($dk = 0,21$), FHB in DON v AC2-frakciji po čiščenju/uporaba fungicidov ($dk = 0,17$) ter FHB in DON v zrnih brez znamenj okužbe/uporaba fungicidov ($dk = 0,03$). Šibka korelacija je bila med FDK ter DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi/brez fungicidov ($dk = 0,18$). Šibke regresijske povezave smo opazili tudi pri FHB in DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi/brez fungicidov ($dk = 0,29$), FHB in DON v AC2-frakciji po čiščenju/brez fungicidov ($dk = 0,38$) ter srednje močne pri FHB in DON v zrnih brez znamenj okužbe/brez fungicidov ($dk = 0,47$) in FHB in DON v AC1-frakciji po čiščenju/uporaba fungicidov ($dk = 0,55$). Srednje tesno povezavo smo dokazali tudi pri FDK in DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi/uporaba fungicidov ($dk = 0,41$), FDK in DON v AC1-frakciji po čiščenju/ brez fungicidov ($dk = 0,52$), FDK in DON v AC2-frakciji po čiščenju/uporaba fungicidov ($dk = 0,69$) ter FDK in DON v zrnih brez znamenj okužbe/uporaba fungicidov ($dk = 0,44$). Šibke povezave smo ugotovili med FDK in DON v AC1-frakciji po čiščenju/uporaba fungicidov ($dk = 0,28$), FDK in DON v AC2-frakciji po čiščenju/ brez fungicidov ($dk = 0,39$) FDK in DON v zrnih brez znamenj okužbe/ brez fungicidov ($dk = 0,25$). Pri ostalih smo dokazali tesno regresijsko povezavo (preglednica 18).

Sorta Incisif je na lokaciji v Mariboru imela šibke regresijske povezave med FHB ter DON v zrnih brez znamenj okužbe/brez fungicidov ($dk = 0,13$) ter FDK in DON v AC2-frakciji po čiščenju/brez fungicidov ($dk = 0,11$) (preglednica 16). Šibke povezave smo ocenili med FHB in DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi/brez fungicidov ($dk = 0,27$), FHB in DON v AC2-frakciji po čiščenju/uporaba fungicidov ($dk = 0,37$) ter med FDK in DON v neprečiščenem zrnju ob žetvi/brez fungicidov ($dk = 0,27$) ter FDK in DON v AC1-frakciji po čiščenju/brez fungicidov ($dk = 0,36$). Pri ostalih so povezave tesne in srednje tesne (preglednica 16). Na lokaciji Jablje pri sorti Incisif (preglednica 20) smo izmerili šibko regresijsko povezavo samo pri FHB in DON v zrnih brez znamenj okužbe/brez fungicidov ($dk = 0,11$) ter srednje tesno povezavo pri FDK in DON v zrnih brez znamenj okužbe/brez fungicidov ($dk = 0,52$). Pri ostalih so regresijske povezave tesne (preglednica 20).

Pri večini sort, preučevanih v našem poskusu, so ugotovljene povezave med FHB/FDK ter DON v zrnih brez znamenj okužbe šibke (dk pod 0,4) oziroma srednje tesne (dk med 0,4 in 0,7), kar nam potrjuje dejstvo, da je na podlagi prisotnosti oziroma odsotnosti vidnih znamenj prisotnosti fuzarioz težko okvirno napovedati vsebnosti DON v zrnju.

V hipotezah smo predvidevali, da obstajajo takšne sorte pšenice tolerantne na fuzarijske okužbe, pri katerih ni tesne povezave med zunanjimi znamenji okužbe na zrnju in vsebnostjo trihotecenskih mikotoksinov v njih. V takšnih primerih lahko tudi na oko povsem zdrava zrna vsebujejo velike količine trihotecenskih mikotoksinov. Z analizo tesnosti povezav med FHB oziroma FDK ter vsebnostjo DON smo našo hipotezo vsaj delno potrdili, ker smo imeli več primerov, ko so bile vrednosti FHB in FDK visoke in je bila vsebnost DON nizka, ter obratno, da smo imeli še več primerov, ko so bile vrednosti FHB in FDK nizke, vsebnosti DON pa so bile dokaj visoke. Ugotovili smo razlike med sortami glede tesnosti povezav in tudi razlike med integriranim in sistemom pridelave brez uporabe fungicidov. Odziv enake sorte je lahko v različnem sistemu pridelave različen. Tako lahko ima ista sorta v pridelovalnem sistemu brez uporabe fungicidov dokaj tesno povezavo med FHB in vsebnostjo DON in dokaj šibko v integriranem pridelovalnem sistemu. Še posebej so razlike izrazite pri očiščenem zrnju, kjer skoraj ni več vidnih

znamenj okužb, zrnje pa kljub temu vsebuje DON. V takšnih primerih imamo zelo nizke determinacijske in korelacijske koeficiente.

Na sam razvoj FHB vpliva mnogo dejavnikov (Yuen in Schoneweis 2007), podobno velja za tvorbo deoksinivalenola (Prandini s sod. 2009). Povezave med FHB oziroma FDK ter vsebnostjo DON so podvržene veliki variabilnosti, ki nam lahko preprečuje natančno predvidevanje vsebnosti DON na podlagi vizualnih znamenj okužb (Beyer s sod. 2010, Beyer s sod. 2007, Prandini s sod. 2009, Koch s sod. 2006, Paul s sod. 2005).

V raziskavi Kocha s sodelavci (2006) so dokazali, da sta na tesnost regresijske povezave med FHB in DON vplivala predvsem predhodna kultura ter odpornost oziroma tolerantnost sorte. Vpliv sortnih razlik na vsebnost DON smo dokazali tudi v našem poskusu, ugotovitve so primerljive z rezultati raziskave Kocha s sodelavci (2006).

Beyer s sodelavci (2010) je v njihovih raziskavah dokazal, da je determinacijski koeficient za povezavo med vsebnostjo DON v pšeničnih zrnih in deležem FDK (%) v povprečju znašal 0,49. Uporaba podatkov iz poskusa s spektrometrično analizo deleža FDK namesto vizualne ocene FDK je v njihovem poskusu zmanjšala stopnjo nepojasnjene variance za 35 % in rezultirala z determinacijskim koeficientom 0,84, vendar še kljub temu ni bilo dovolj natančno za ločevanje zrn z vsebnostjo DON pod 1,25 mg/kg (Beyer s sod. 2010). Tesnost linearne povezave v poskusu je primerljiva z našimi rezultati in potrjuje dejstvo, da je vizualna ocena znamenj prisotnosti bolezni lahko le omejeno natančna metoda predvidevanja količin DON. Podobne rezultate je za območje južne Brazilije dokazal Del Ponte s sodelavci (2012), kjer je bila korelacija med DON in FDK šibka ($R = 0,27$, $P = 0,02$).

Beyer s sodelavci (2007) ter Hernandez Nopsa s sodelavci (2012) sta dokazala tudi primere zelo tesne povezave med odstotkom FDK in vsebnostjo DON, kar nasprotuje našim ugotovitvam. Mogoče je do razlik prišlo zaradi drugačnega vpliva okolja ter genotipa sort. Sama variabilnost vsebnosti DON pri FDK- zrnih je v njihovem poskusu variirala za faktor 11,59 med leti in 1,87 med kultivarji. Razlike lahko najdemo tudi v različni metodologiji

določanja FDK-vzorcev. Verjetno je do razlik prišlo tudi zaradi dejstva, da je naš poskus obsegal samo eno leto preizkušanja sort v poljskih pogojih.

Meta analiza podatkov 163 raziskav, ki so obravnavale FDK in DON v Združenih državah Amerike je pokazala, da je bilo 53 % razlik med DON pojasnjeno s FDK v poljskih poskusih (Paul s sod. 2005). To nam nakazuje, da v poljskih poskusih še neznani ali nemerljivi dejavniki vplivajo na razmerja med DON in FDK.

V literaturi ob našem pregledu nismo zaznali nobenega članka, ki bi na znanstveni način obravnaval regresijske povezave med FHB oziroma FDK in sortami, ki smo jih mi preučevali v poskusu. Zato v tem kontekstu naš poskus pojasnjuje dosedaj neznane lastnosti teh sort. V bodoče bi bilo potrebno poskus razširiti na več sort ter vključiti nekatere obetajoče metode določanja bolezenskih znamenj, ki rezultirajo s tesnejšimi regresijskimi povezavami.

4.4 Rezultati analize zmanjševanja vsebnosti mikotoksinov pri čiščenju in med peko kruha

Preglednica 21: Nekatere lastnosti moke, proizvedene med poskusom.

Table 21: Some properties of flour produced during experiment

Tip moka	Vlaga (%)	Pepel (%)	FN	Kislost	Razporeditev velikosti delcev (%)		
					>250 μm	>200 μm	>132 μm
IVM-moka	13,4	0,563	204	3,2	0,9	3,1	23
IMK-moka	13,1	1,765	221	4,4	19,6	26,9	43
TMK-moka	13,1	1,502	292	3,3	23,8	31,1	54,2

Legenda: IVM: industrijsko valjčno mletje (industrijska standardna moka); IMK: industrijski mlin kladivar (industrijska polnozrnata moka); TMK: tradicionalni mlevski kamen (tradicionalna polnozrnata moka); FN: padajoče število

Preglednica 22: Vsebnost DON in NIV ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v pšeničnem zrnju pred in po čiščenju z uporabo industrijskih čistilcev zrnja (IČ) ali tradicionalnih čistilcev (TČ) ter redukcija (%) vsebnosti mikotoksinov med čiščenjem

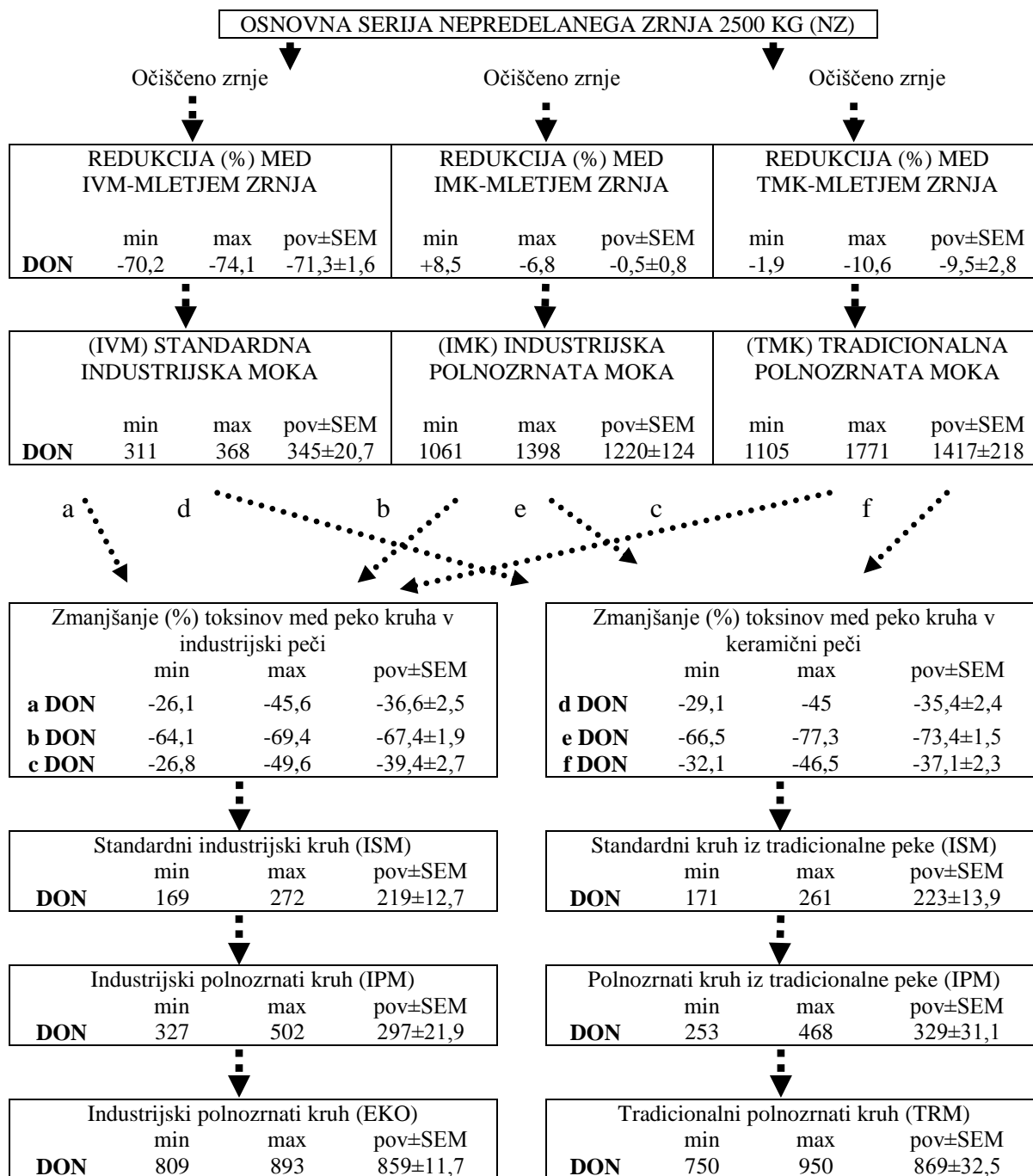
Table 22: DON and NIV content ($\mu\text{g} / \text{kg}$) in wheat kernels before and after cleaning using industrial cleaners grain (IČ) or traditional cleaners (TČ) and reduction (%) of mycotoxins content during cleaning

Postopek:		Min. vrednost	Maks. vrednost	Povprečje \pm SEM
Vrednosti mikotoksinov v zrnju:				
Pred čiščenjem	DON	1743	2382	1949 \pm 226 c
Po IČ-čiščenju	DON	1156	1423	1201 \pm 140 a
Po TČ-čiščenju	DON ^a	1343	1928	1548 \pm 266 b
Pred čiščenjem	NIV	157	238	194 \pm 12,6 c
Po IČ-čiščenju	NIV	92	197	128 \pm 15,7 a
Po TČ-čiščenju	NIV ^a	137	208	164 \pm 10,5 b
Redukcija zaradi čiščenja:				
IČ-čiščenje	DON	-33,7	-40,2	-38,2 \pm 1,1 b
TD-čiščenje	DON ^a	-16,8	-22,9	-20,8 \pm 0,9 a
IČ-čiščenje	NIV	-17,2	-46,7	-34,8 \pm 4,1 b
TD-čiščenje	NIV ^a	-12,6	-18,4	-15,5 \pm 0,9 a

SEM: standardna napaka povprečja petih ponovitev. ^a: tradicionalna metoda predelave. Povprečja označena z enako črko (znotraj NIV ali DON) se ne razlikujejo značilno glede na Tukey HSD-test ($P < 0,05$).

Preglednica 23: Vsebnost DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v moki, mleti s tremi tehnikami mletja, vsebnost v kruhu po peki treh tipov moke v industrijski in keramični peči, ogrevani z lesom, in redukcija (%) vsebnosti mikotoksinov med mletjem in peko

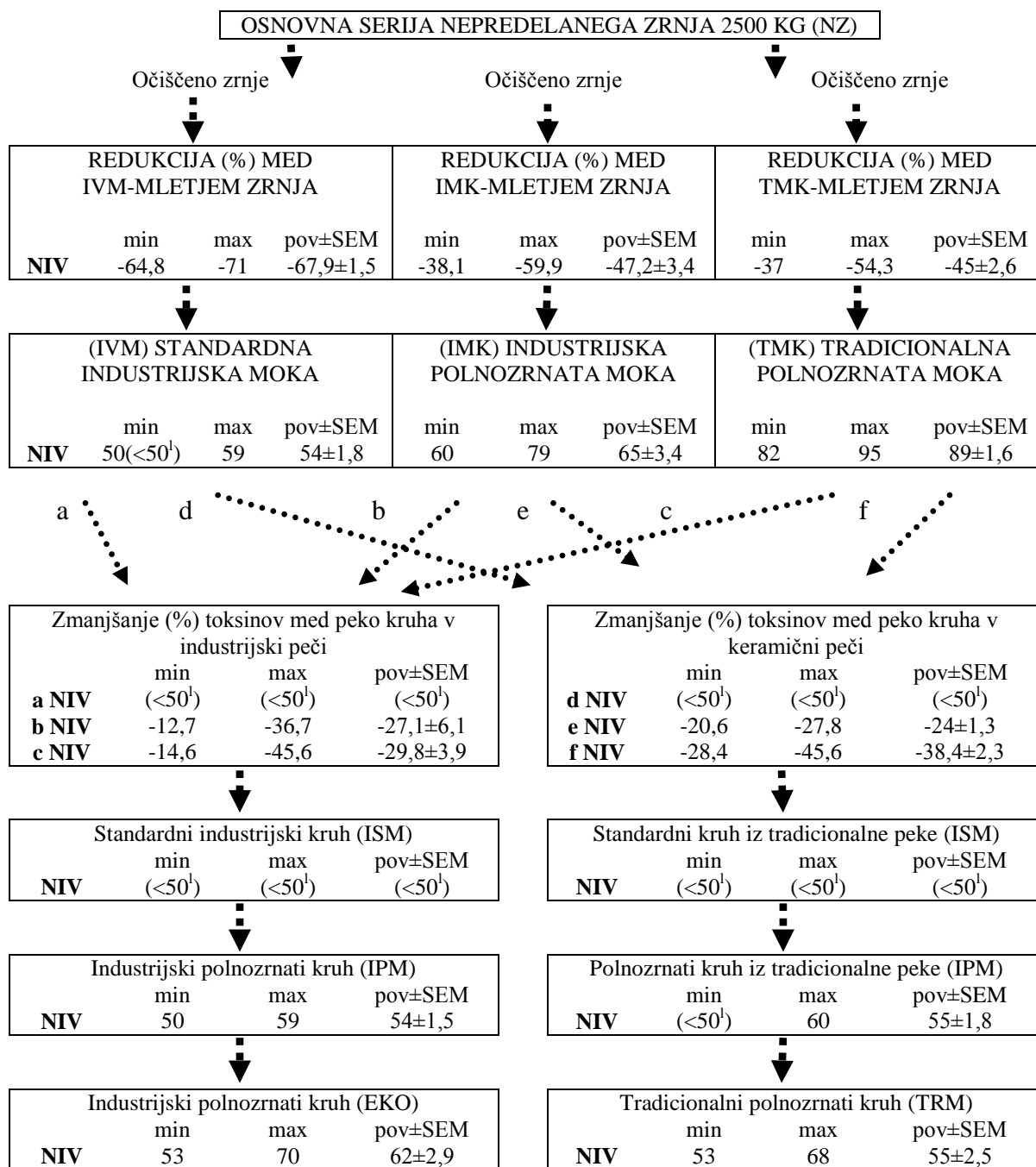
Table 23: DON content ($\mu\text{g}/\text{kg}$) in the flour processed by three techniques of milling, the content in bread after baking three types of flour in industrial and ceramic stoves heated with wood and reduction (%) of mycotoxins content during milling and baking



L – pod mejo detekcije 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$

Preglednica 24: Vsebnost NIV ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v moki mleti s tremi tehnikami mletja, vsebnost v kruhu po peki treh tipov moke v industrijski in keramični peči, ogrevani z lesom, in redukcija (%) vsebnosti mikotoksinov med mletjem in peko

Table 24: NIV content ($\mu\text{g}/\text{kg}$) in the flour processed by three techniques of milling, the content in bread after baking three types of flour in industrial and ceramic stoves heated with wood and reduction (%) of mycotoxins content during milling and baking



L – pod mejo detekcije 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$

4.4.1 Razprava o rezultatih zmanjševanja vsebnosti DON in NIV med čiščenjem zrnja pred peko

Rezultati poskusa so pokazali, da je čiščenje zrnja na industrijski način zmanjšalo vsebnost DON za 38,2 % in NIV za 34,8 %. Pri uporabi tradicionalnega stroja za čiščenje (vejalnika) na kmetiji smo dosegli 20,8 % zmanjšanje vsebnosti DON in 15,5 % zmanjšanje vsebnosti NIV (preglednica 22). Glede na ugotovitve so bili naši rezultati čiščenja večji od pričakovanih vrednosti (20 %), ki jih navaja Larsen s sodelavci (2004), vendar znotraj okvirov rezultatov večih drugih raziskav (Young s sod. 1984, Scott s sod. 1984, Tkachukks sod. 1991, Bennett in Richrad 1996, Murphy s sod. 2006).

Zrnje, močnejše okuženo s fuzariozami, postane izmaličeno in lažje ter običajno vsebuje večje količine DON kot okuženo in normalno veliko zrnje (Nowickis sod. 1988, Chelkowski in Perkowski 1992). Tako zrnje je razmeroma enostavno odstraniti s postopki čiščenja. Učinek čiščenja tako zavisi od stopnje penetracije glivnega micelija v notranjost zrna in njegove biomase znotraj zrna (Trigo-Stockli s sod. 1996, FAO 2002, Murphy s sod. 2006). V rastni sezoni, naklonjeni močnim fuzarijskim okužbam, lahko tudi zrna z normalno obliko in težo vsebujejo večje količine DON (Bennett in Richard 1996). Ta pojav je pogostejši pri sortah, tolerantnejših na okužbe. V takih primerih je standardni postopek čiščenja zrnja manj uspešen pri zmanjševanju DON in NIV pred mletjem. Sklepamo, da se je podobno zgodilo v našem poskusu. Sorta, uporabljena v našem poskusu, je zmerno tolerantna na fuzarijske okužbe. Mikotoksinska vsebnost je bila po 8-mesečnem skladiščenju pred pričetkom poskusa s čiščenjem za 35 % višja od vrednosti pri žetvi, kar lahko nakazuje na nadaljnji razvoj gliv ali nadaljnjo tvorbo mikotoksinov med skladiščenjem. Zrnje, ki jih fuzarioze okužijo med skladiščenjem, površinsko ni izmaličeno in nima manjše mase, zato ga je težje odstraniti s postopki čiščenja.

4.4.2 Razprava o rezultatih zmanjševanja stopnje DON in NIV med mletjem

Kot je že navedeno, mletje večinoma vodi v porazdelitev DON in NIV v različne mlevske frakcije, večje vrednosti so pričakovane v frakcijah, ki vsebujejo zunanje dele zrnja (otrobi, polnozrnata moka itd.), in manjše v tistih, ki vsebujejo samo notranji endosperm (fina bela moka) (Scott s sod. 1983, Scott s sod. 1984, Young s sod. 1984, Abbas s sod. 1985). V zrnih, ki so močno okužena s fuzariozami, so velike vrednosti DON in NIV mogoče tudi v notranjosti zrnja. Porazdelitev DON in NIV v različnih frakcijah zavisi od sorte, mlevske tehnike in stopnje glivične okužbe (Samar s sod. 2001, Samar s sod. 2003).

V našem poskusu smo preizkusili tri mlevske metode. Z uporabo standardnega industrijskega mletja (IVM) smo zmanjšali količino DON za 71,3 % in NIV za 67,9 % (preglednici 23 in 24). Dobljene vrednosti so bile večje, kot smo jih pričakovali glede na rezultate poskusov drugih raziskovalcev (0–40 %) (Scotts sod. 1984, Youngs sod. 1984, Abbas sod. 1985, Viscontis sod. 2004). Mlinsko podjetje, kjer se je izvajal poskus, proizvaja fino standardno moko za kruh (tip 550–600) z majhno vsebnostjo pepela (preglednica 21). Vsebnost DON in NIV je ponavadi tesno povezana s stopnjo surovega pepela v moki. V moki z večjo vsebnostjo surovega pepela lahko pričakujemo večje vsebnosti DON in NIV. V našem poskusu je pri IVM-mletju le majhen delež frakcij blizu endosperma vstopa v fino mleto moko. To dejstvo je morda razlog za veliko stopnjo redukcije vsebnosti mikotoksinov med industrijskim mletjem (preglednici 23 in 24).

IVM-mletje je imelo signifikantno večji učinek na vsebnost mikotoksinov kot IMK (mlin kladivar) (-0,5 % za DON, preglednici 23 in 24) in TMK (mlinski kamen) (-9,5 % za DON, preglednici 23 in 24). V obeh primerih (IMK in TMK) smo celotno zrnje zmleli in nobene frakcije nismo odstranili s siti. Mogoče sama mlevska procedura vpliva na vezavo toksinskih molekul na matriks (matrix) polnozrnate moke in posledično na ekstrakcijske postopke mikotoksinov v laboratorijski pripravi vzorcev za HPLC-analize. V literaturi nismo našli nobene potrditve te domneve, prav tako ne informacij o različnem načinu vezave mikotoksinov na matriks moke zaradi kemičnih reakcij zaradi IMK- ali TMK-mletja. Primerjava velikosti delcev v moki iz IMK- ter TMK-mletja je pokazala, da je

IMK-moka vsebovala manjše število večjih delcev kot TMK-moka (43 % in 54,2 %) (preglednica 20). Pomembna razlika med obema načinom mletja je bila tudi temperatura mletja. Pri mletju z uporabo mlina kladivarja je lahko material izpostavljen temperaturam 60–75 °C, kar je sicer prenizka temperatura, da bi povzročila signifikanten razpad toksinov, mogoče pa je lahko vplivala na moč vezave toksina na matriks moke. V primeru mletja z mlinom kladivarjem smo izmerili povprečen padec vsebnosti DON 0,5 % v primerjavi z začetnimi izmerjenimi vrednostmi. Vendar se vrednosti, izmerjene pred začetkom mletja ali vrednosti po mletju z mlinskim kamnom niso statistično značilno razlikovale. Verjetno so izmerjene razlike v vsebnosti mikotoksinov pred in po mletju rezultat variabilnosti, povzročene z naključno pripravo vzorcev in ne kakih posebnih procesov med mletjem, ki spreminjajo fizične in kemične lastnosti molekul toksinov. Pri poskusu z industrijskimi napravami čiščenje ne more biti izvedeno enako natančno kot v laboratoriju. Mešanju materialov različnih vzorcev se ne moremo popolnoma izogniti. Pomembno je tudi dejstvo, da IMK- in TMK-mletje ne more zmanjšati vsebnosti toksinov do te mere kot IVM-mletje, ker vsi deli zrnja vstopajo v moko.

Zmanjšanje vsebnosti NIV je bilo večje kot pri DON. V literaturi nismo našli zapisov, da je porazdelitev NIV v okuženem zrnju drugačna kot od DON ali da je vezava NIV na matriks moke drugačna od vezave DON.

4.4.3 Razprava o rezultatih zmanjševanja vsebnosti DON in NIV med peko

Podatki zmanjšanja vsebnosti toksinov med peko so prikazani v preglednicah 23 in 24. V našem primeru je peka v industrijski peči zmanjšala vsebnost DON v povprečju 36,6–67,4 % in NIV 27,1–29,8 %. Peka v keramični peči je zmanjšala vsebnost DON od 35,4–73,4 % in NIV od 24,0 do 38,4 %. Razlike med industrijsko peko in peko v keramični peči so bile majhne in se niso statistično značilno razlikovale. V literaturi najdemo nasprotujoče si rezultate raziskav, ki kažejo tako majhno znižanje vsebnosti med peko za 5–10 % (Scott s sod. 1983, Scott s sod. 1984, Young s sod. 1984, Wolf-Hall s sod.

1999, Hazel in Patel 2004) kot tudi zmerno zmanjšanje od 20 do 70 % (Seitz s sod. 1986, Lauren in Smith 2001, Bretz s sod. 2006). Podatkov o rezultatih vpliva peke v keramičnih pečeh na vsebnosti DON in NIV nismo našli. Zmanjšanje DON in NIV zaradi vpliva peke pri IMK- in TMK- moki je bila večja pri peki kruha v keramičnih pečeh. V našem poskusu so bile razlike v temperaturi med industrijsko peko in peko v keramičnih pečeh majhne (10-15 °C), vendar verjetno dovolj, da so rahlo višje temperature v keramični peči povzročile malenkostno večji razpad DON in NIV. Zmanjšanje vsebnosti toksinov pri IMK-peki je bilo veliko večje (67,4–73,4 %) kot stopnja redukcije pri peki polnozrnatega kruha iz TRM-moke (37,1–39,4 %) (preglednici 23 in 24). Tako veliko razliko ne moremo razložiti samo z variabilnostjo vzorčenja. Mogoče vezava DON na matriks testa ni enaka pri obeh tipih testa. Morebiti je velikost delcev v moki vplivalo na ekstrakcijo toksinov iz matriksa kruha.

Peka ima dokazano majhen učinek na odstranitev DON in NIV zaradi njune toplotne obstojnosti (Sugita-Konishi s sod. 2006). 70-minutna peka pri temperaturi blizu 200 °C ni zmanjšala vsebnosti DON in NIV za več kot 77 %, zato pri podobnih tehnikah peke ne moremo pričakovati popolnega razpada omenjenih toksinov.

4.5 Rezultati skladiščnega poskusa

Preglednica 25: Pekovske lastnosti moke pred skladiščenjem

Table 25: Baking properties of flour before storage

Tip moka	Vlaga (%)	Pepel (%)	FN	Kislost (mmol/kg)	Porazdelitev delcev po velikosti (%)		
					>250 µm	>200 µm	>132 µm
ISM-moka	13,4	0,53	202	31	0,8	3,5	24
IPM-moka	13,2	1,715	218	42,9	18,6	25,9	45
TRM-moka	13,3	1,67	295	33,7	22,3	33,2	56,2

ISM – industrijska standardna moka, IPM – industrijska polnozrnata moka, TRM – tradicionalna polnozrnata moka, FN – število padanja.

Preglednica 26: Povprečje (SE – standardna napaka povprečja) stopnje vlage in kislosti vzorcev moke na začetku (PS) in ob koncu 120-dnevnega skladiščenja (KS) v povezavi s tipom moke (TM), tipom embalaže (TE) in skladiščno temperaturo (ST)

Table 26: Average (SE- standard error of the mean) levels of moisture and acidity in samples of flour at the beginning (PS) and at the end of the 120-day storage (KS) in relation to the type of flour (TM), type of packaging (TE) and storage temperature (ST)

Tip moke	Tem. skladiščenja	Tip embalaže	Vlaga (% ±SE)		Kislost (mmol/kg ± SE)	
			PS	KS	PS	KS
TRM	10 °C	Pa	13,1 ± 0,1	14,2 ± 0,2*	33,5 ± 0,1	34,0 ± 0,1
TRM	10 °C	PI 1	13,2 ± 0,1	13,8 ± 0,1*	33,5 ± 0,1	33,7 ± 0,1
TRM	10 °C	PI 2	13,2 ± 0,1	13,4 ± 0,1	33,3 ± 0,2	33,7 ± 0,1
TRM	25 °C	Pa	13,3 ± 0,0	14,2 ± 0,1*	33,5 ± 0,1	34,9 ± 0,1*
TRM	25 °C	PI 1	13,3 ± 0,1	13,2 ± 0,1	33,7 ± 0,2	34,3 ± 0,2
TRM	25 °C	PI 2	13,3 ± 0,1	13,2 ± 0,1	33,7 ± 0,2	34,1 ± 0,2
IPM	10 °C	Pa	13,0 ± 0,1	13,7 ± 0,2*	42,6 ± 0,3	46,6 ± 0,5*
IPM	10 °C	PI 1	13,0 ± 0,1	13,2 ± 0,1	43,3 ± 0,7	45,3 ± 0,5*
IPM	10 °C	PI 2	13,0 ± 0,1	13 ± 0,0	43,8 ± 0,5	44,5 ± 0,3
IPM	25 °C	Pa	13,2 ± 0,1	13,5 ± 0,1	43,0 ± 0,4	47,8 ± 0,3*
IPM	25 °C	PI 1	13,2 ± 0,1	13,2 ± 0,0	43,3 ± 0,2	44,4 ± 0,2*
IPM	25 °C	PI 2	13,1 ± 0,1	13,2 ± 0,1	43,6 ± 0,2	43,2 ± 0,2
ISM	10 °C	Pa	13,4 ± 0,1	13,8 ± 0,1	30,4 ± 0,4	31,4 ± 0,3
ISM	10 °C	PI 1	13,4 ± 0,1	13,6 ± 0,1	30,3 ± 0,3	31,4 ± 0,3
ISM	10 °C	PI 2	13,5 ± 0,1	13,5 ± 0,1	30,8 ± 0,1	30,7 ± 0,1
ISM	25 °C	Pa	13,4 ± 0,1	13,4 ± 0,1	30,9 ± 0,2	32,7 ± 0,1
ISM	25 °C	PI 1	13,5 ± 0,1	13,5 ± 0,1	31,0 ± 0,3	32,1 ± 0,1
ISM	25 °C	PI 2	13,4 ± 0,1	13,5 ± 0,2	30,5 ± 0,2	30,7 ± 0,1

ISM – industrijska standardna moka, IPM – industrijska polnozrnata moka, TRM – tradicionalna polnozrnata moka, Pa – papirnata vrečka, PI1 – odprta plastična vrečka, PI2 – zaprta plastična vrečka.

*KS-vrednosti so se signifikantno razlikovale od PS-vrednosti glede na t-test parjenih vzorcev (P < 0,05) za specifične kombinacije eksperimentalnih faktorjev.

Preglednica 27: Povprečje (SE – standardna napaka povprečja) vsebnosti deoksinivalenola (DON) pred (PS) in po 120-dnevnem skladiščenju (KS) v povezavi s tipom moke (TM), skladiščno temperaturo (ST) in tipom embalaže (TE) z rezultati t-testov parjenih vzorcev za vsako specifično kombinacijo poskusnih dejavnikov

Table 27: Average (SE – standard error of the mean) levels of deoxynivalenol (DON) from (PS) and after 120-day storage (KS) in relation to the type of flour (TM), storage temperature (ST) and the type of packaging (TE) with the results of t-tests of paired samples for each specific combination of experimental factors

TM	ST	TE	PS µg/kg ± SE	KS µg/kg ± SE	t	df	P
TRM	10 °C	Pa	1400 ± 109	1316 ± 108	-2,071	4	0,107
TRM	10 °C	Pl 1	1288 ± 102	1246 ± 107	-1,586	4	0,188
TRM	10 °C	Pl 2	1343 ± 89	1339 ± 130	-0,071	4	0,947
TRM	10 °C	Pov	1344 ± 56	1300 ± 190	-1,894	14	0,079
TRM	25 °C	Pa	1294 ± 52	1143 ± 33	-1,947	4	0,123
TRM	25 °C	Pl 1	1424 ± 63	1425 ± 69	0,038	4	0,971
TRM	25 °C	Pl 2	1401 ± 64	1380 ± 52	-0,502	4	0,642
TRM	25 °C	Pov	1373 ± 69	1316 ± 37	-1,697	14	0,112
IPM	10 °C	Pa	1227 ± 62	1119 ± 77	-1,329	4	0,255
IPM	10 °C	Pl 1	1114 ± 68	1126 ± 69	0,23	4	0,829
IPM	10 °C	Pl 2	1133 ± 56	1132 ± 81	-0,024	4	0,982
IPM	10 °C	Pov	1158 ± 60	1150 ± 127	-0,398	14	0,697
IPM	25 °C	Pa	1296 ± 27	1150 ± 88	-4,074	4	0,015*
IPM	25 °C	Pl 1	1209 ± 90	1150 ± 88	0,123	4	0,000*
IPM	25 °C	Pl 2	1088 ± 111	1143 ± 109	0,749	4	0,495
IPM	25 °C	Pov	1198 ± 104	1153 ± 222	-1,111	14	0,285
ISM	10 °C	Pa	344 ± 10	331 ± 22	-0,691	4	0,528
ISM	10 °C	Pl 1	322 ± 22	326 ± 24	0,411	4	0,702
ISM	10 °C	Pl 2	283 ± 21	283 ± 15	-0,117	4	0,913
ISM	10 °C	Pov	317 ± 30	313 ± 41	-0,422	14	0,665
ISM	25 °C	Pa	300 ± 27	289 ± 33	-1,552	4	0,196
ISM	25 °C	Pl 1	327 ± 16	321 ± 32	-0,281	4	0,793
ISM	25 °C	Pl 2	350 ± 14	346 ± 14	-0,168	4	0,875
ISM	25 °C	Pov	325 ± 25	318 ± 36	-0,682	14	0,506
10 °C		Pov	940 ± 35	921 ± 36	-1,699	44	0,096
25 °C		Pov	966 ± 72	929 ± 69	-2,046	44	0,047*
		Pa	977 ± 89	906 ± 28	-3,296	29	0,003*
		Pl 1	948 ± 87	932 ± 86	-1,281	29	0,21
		Pl 2	934 ± 87	937 ± 88	0,245	29	0,809
		TRM	1358 ± 45	1308 ± 53	-2,509	29	0,018*
		IPM	1178 ± 43	1151 ± 49	-1,175	29	0,25
		ISM	322 ± 15	316 ± 14	-0,821	29	0,419

ISM – industrijska standardna moka, IPM – industrijska polnozrnata moka, TRM – tradicionalna polnozrnata moka, Pa – papirnata vrečka, Pl1 – odprta plastična vrečka, Pl2 – zaprta plastična vrečka, Pov – povprečje.

*Vrednosti kažejo statistično signifikantne razlike med KS- in PS-povprečji pri 5-odstotnem tveganju

Preglednica 28: Povprečje (SE – standardna napaka povprečja) vsebnosti nivalenola (NIV) pred (PS) in po 120-dnevnem skladiščenju (KS) v odvisnosti od tipa moke (TM), skladiščnih temperatur (ST) in tipa embalaže (TE) z rezultati t-testa parjenih vzorcev za vsako specifično kombinacijo poskusnih vzorcev

Table 28: Average (SE – standard error of the mean) levels of nivalenol (NIV) from (PS) and after 120-day storage (KS) in relation to the type of flour (TM), storage temperature (ST) and the type of packaging (TE) with the results of t-tests of paired samples for each specific combination of experimental factors

TM	ST	TE	PS µg/kg ± SE	KS µg/kg ± SE	t	df	P
TRM	10 °C	Pa	97 ± 6,6	83 ± 4,5	2,158	4	0,097
TRM	10 °C	Pl 1	93 ± 6,6	81 ± 5,3	1,591	4	0,187
TRM	10 °C	Pl 2	116 ± 5,3	103 ± 5,5	1,194	4	0,298
TRM	10 °C	Pov	102 ± 4,2	89 ± 5,1	2,844	14	0,013*
TRM	25 °C	Pa	111 ± 11,7	78 ± 8,4	1,721	4	0,16
TRM	25 °C	Pl 1	113 ± 15,8	92 ± 5,9	1,914	4	0,128
TRM	25 °C	Pl 2	102 ± 6,7	90 ± 12,8	1,037	4	0,358
TRM	25 °C	Pov	109 ± 6,5	87 ± 5,3	2,728	14	0,016*
IPM	10 °C	Pa	123 ± 6,4	110 ± 4,7	1,787	4	0,148
IPM	10 °C	Pl 1	955 ± 3,0	91 ± 2,3	0,638	4	0,558
IPM	10 °C	Pl 2	123 ± 8,3	116 ± 3,7	0,61	4	0,575
IPM	10 °C	Pov	113 ± 5,1	106 ± 4,7	1,722	14	0,107
IPM	25 °C	Pa	86 ± 5,1	69 ± 7,2	2,72	4	0,053
IPM	25 °C	Pl 1	110 ± 10,2	97 ± 5,1	1,849	4	0,138
IPM	25 °C	Pl 2	91 ± 5,8	89 ± 4,8	0,746	4	0,497
IPM	25 °C	Pov	96 ± 4,8	84 ± 4,4	3,113	14	0,008*
ISM	10 °C	Pa	57 ± 3,0	50 ± 0,4	2,119	4	0,101
ISM	10 °C	Pl 1	56 ± 2,8	50 ± 2,7	3,085	4	0,037*
ISM	10 °C	Pl 2	54 ± 1,9	49 ± 0,8	2,557	4	0,063
ISM	10 °C	Pov	55 ± 1,4	50 ± 0,9	4,349	14	0,001*
ISM	25 °C	Pa	61 ± 6,2	49 ± 0,6	1,962	4	0,121
ISM	25 °C	Pl 1	68 ± 6,5	57 ± 2,3	2,094	4	0,104
ISM	25 °C	Pl 2	64 ± 5,1	57 ± 1,4	1,169	4	0,307
ISM	25 °C	Pov	64 ± 3,1	54 ± 1,3	3,152	14	0,007*
10 °C		Pov	90 ± 4,4	81 ± 4,1	4,069	44	0,000*
25 °C		Pov	90 ± 4,0	75 ± 3,2	4,543	44	0,000*
		Pa	89 ± 5,2	73 ± 4,3	4,124	29	0,000*
		Pl 1	89 ± 5,1	78 ± 3,7	4,004	29	0,000*
		Pl 2	92 ± 5,2	89 ± 5,3	2,422	29	0,022*
		TRM	105 ± 3,9	88 ± 3,6	3,785	29	0,001*
		IPM	105 ± 3,8	96 ± 3,4	3,326	29	0,002*
		ISM	60 ± 1,9	52 ± 0,9	4,619	29	0,000*

ISM – industrijska standardna moka, IPM – industrijska polnozrnata moka, TRM – tradicionalna polnozrnata moka, Pa – papirnata vrečka, Pl1 – odprta plastična vrečka, Pl2 – zaprta plastična vrečka, Pov – povprečje.

*Vrednosti kažejo statistično signifikantne razlike med KS- in PS-povprečji pri 5-odstotnem tveganju

Preglednica 29: Rezultati ANOVA-faktorske analize za relativno povprečje (rAs) vsebnosti deoksinivalenola in nivalenola

Table 29: Results of ANOVA-factor analysis for the relative average (rAS) content of deoxynivalenol and nivalenol

Vir variabilnosti	df	F (DON)	P (DON)	F (NIV)	P (NIV)
Glavni dejavniki					
A: Tip moke	2	0,37	0,693	1	0,374
B: Skladiščna temperatura	1	0,35	0,555	1,38	0,244
C: Tip embalaže	2	3,42	0,038*	3,34	0,043*
Interakcije					
AB	4	0,23	0,919	0,07	0,933
AC	2	0,05	0,95	0,12	0,976
BC	2	0,64	0,528	0,41	0,633
ABC	4	0,56	0,691	0,05	0,955
Ostanek	72				
Skupno	89				

$rAs (\%) = ((As/Bs) \times 100)$; As, Bs – vsebnost mikotoksinov po in pred skladiščenjem moke.

*Signifikantni učinek faktorja pri 5-odstotnem tveganju.

Preglednica 30: Povprečje (SE – standardna napaka povprečja) relativne vsebnosti deoksinivalenola (rKS, %) v odvisnosti od različnih tipov moka (TRM, IPM, ISM), skladiščne temperature (10 °C, 25 °C) in tipa embalaže (Pa, P11, P12)

Table 30: Average (SE – standard error of the mean) relative concentrations of deoxynivalenol (rKS, %) depending on the different types of flour (TRM, IPM, ISM), storage temperature (10 °C, 25 °C) and the type of packaging (Pa, P11, P12)

	TRM	IPM	ISM	Pov
10 °C	96 ± 1,8 (15) Aa	99 ± 1,9 (15) aA	99 ± 2,7 (15) aA	98 ± 0,6 (45) A
25 °C	96 ± 2,5 (15) Aa	97 ± 3,8 (15) aA	97 ± 3,2 (15) aA	97 ± 1,5 (45) A
Pa	92 ± 1,2 (10) aA	93 ± 2,2 (10) aA	96 ± 4,4 (10) aA	93 ± 1,8 (30) A
P11	98 ± 1,6 (10) aA	98 ± 2,8 (10) aAB	99 ± 4,7 (10) aA	98 ± 1,5 (30) AB
P12	99 ± 1,2 (10) aA	103 ± 2,2 (10) aB	100 ± 5,4 (10) aA	101 ± 1,6 (30) B
Pov	96 ± 1,3 (30) a	98 ± 1,4 (30) a	98 ± 1,9 (30) a	97 ± 3,1 (90)

ISM – industrijska standardna moka, IPM – industrijska polnozrnata moka, TRM – tradicionalna polnozrnata moka, Pa – papirnata vrečka, P11 – odprta plastična vrečka, P12 – zaprta plastična vrečka, Pov – povprečje.

Povprečja rKS za specifične kombinacije postopkov, označena z enako črko, se signifikantno ne razlikujejo glede na Tukey's HSD-test ($P < 0,05$). Majhne črke se nanašajo na primerjave med vrsticami in velike črke za primerjavo med stolpci.

rKS = ((KS/PS) x 100). Velikost vzorca je prikazana v oklepajih.

Preglednica 31: Povprečje (SE – standardna napaka povprečja) relativne vsebnosti nivalenola (rKS, %) v odvisnosti od različnih tipov moke (TRM, IPM, ISM), skladiščne temperature (10 °C, 25 °C) in tipa embalaže (Pa, P11, P12)

Table 31: Average (SE – standard error of the mean) relative concentrations of nivalenol (rKS, %) depending on the different types of flour (TRM, IPM, ISM), storage temperature (10 °C, 25 °C) and the type of packaging (Pa, P11, P12)

	TRM	IPM	ISM	Pov
10 °C	88 ± 1,2 (15) aA	95 ± 1,5 (15) aA	90 ± 2,8 (15) aA	91 ± 3,6 (45) A
25 °C	83 ± 3,0 (15) aA	89 ± 2,2 (15) aA	88 ± 3,2 (15) aA	86 ± 1,5 (45) A
Pa	81 ± 3,2 (10) aA	85 ± 4,2 (10) aA	86 ± 4,4 (10) aA	84 ± 0,8 (30) A
P11	87 ± 1,7 (10) aA	94 ± 2,8 (10) aAB	88 ± 4,7 (10) aA	89 ± 1,5 (30) AB
P12	88 ± 1,9 (10) aA	97 ± 2,6 (10) aB	92 ± 5,4 (10) aA	92 ± 1,5 (30) B
Pov	86 ± 2,3 (30) a	92 ± 1,4 (30) a	89 ± 1,8 (30) a	89 ± 2,7 (90)

ISM – industrijska standardna moka, IPM – industrijska polnozrnata moka, TRM – tradicionalna polnozrnata moka, Pa – papirnata vrečka, P11 – odprta plastična vrečka, P12 – zaprta plastična vrečka, Pov – povprečje.

Povprečja rKS za specifične kombinacije postopkov, označena z enako črko, se signifikantno ne razlikujejo glede na Tukey's HSD test ($P < 0,05$). Majhne črke se nanašajo na primerjave med vrsticami in velike črke za primerjavo med stolpci.

rKS = $((KS/PS) \times 100)$. Velikost vzorca je prikazana v oklepajih.

4.5.1 Razprava o rezultatih spremembe vlažnosti zrnja in stopnje kislosti

Rezultati glede spremembe v vlažnosti zrnja in v stopnji kislosti so prikazani v preglednici 26. Opazili smo minimalni porast vlage v večini paketov in pri obeh mikroklimatskih razmerah skladiščenja. Največji porast vlage smo izmerili pri TRM-moki, pakirani v papirnate vrečke in skladiščeni pri 10 °C. Vsebnost vlage se pri moki, skladiščeni v plastičnih vrečkah ni signifikantno spremenila, ne pri 10 in ne pri 25 °C. Največji porast v

stopnji kislosti smo izmerili pri IPM-moki v papirnati vrečki, skladiščeni pri 25 °C ter najmanjši pri moki, zaprti v plastičnih vrečkah brez dostopa atmosferskega zraka. Povečane vsebnosti kislin pri ISM-mokah niso bile signifikantne pri nobenem pakiranju in skladiščnem režimu.

Porast kislosti pri IPM-moki je posledica pregrevanja moke pri postopku mletja. Moka se v mlinu kladivarju lahko segreje na več kot 70 °C. To so pokazale lastne meritve temperature kovinskega oboda mletvene komore, kar povzroči oksidacijo dostopnih maščob. Povečana kislost kaže na začetek kvarnih procesov zaradi hitre oksidacije. To se pri mletju na valjčnem mlinu in pri mletju na mlinskem kamnu ne zgodi v tako velikem obsegu.

4.5.2 Razprava o rezultatih spremembe vsebnosti DON in NIV tekom skladiščenja moke

Rezultati primerjave vsebnosti DON in NIV v 120-dnevnem skladiščanju so prikazani v preglednicah 27 in 28. V večini primerov smo zaznali rahel padec vsebnosti toksinov po skladiščanju. Glede na rezultate *t*-testa (preglednici 27 in 28) v primeru TRM- in ISM-moke nismo opazili signifikantno zmanjšanje v nobeni kombinaciji materiala za pakiranje in temperaturnega režima. Signifikantno zmanjšanje vsebnosti DON smo opazili pri IPM-moki, skladiščeni v papirnati vrečki pri 25 °C ($t = 4,074$, $df = 4$, $P = 0,015$) in pri odprti plastični vrečki ($t = 0,123$, $df = 4$, $P = 0,0004$). rKS-vrednosti so bile 90 % za IPM 25 °C Pa-moko in 95 % za IPM 25 °C P11-moko. To kaže na neko stopnjo zmanjševanja vsebnosti DON tekom skladiščanja. Rezultati ANOVE (preglednica 29) dokazujejo, da ni bilo signifikantnih razlik v stopnji ohranjanja DON, ko smo moko skladiščili pri 10 ali 25 °C ($F_{1,72} = 0,350$, $P = 0,555$). Na stopnjo ohranjanja DON je imel vpliv samo material za pakiranje. Zmanjšanje vsebnosti DON je bilo pri moki, skladiščeni v papirnatih vrečkah, signifikantno večje kot pri plastičnih vrečkah (rKS = 101 %, $F_{2,72} = 3,42$, $P = 0,038$) (preglednica 27). To je verjetno nastalo zaradi odsotnosti dostopa zraka v primeru plastičnih vrečk. Razlike v stopnjah ohranjanja DON med posameznimi tipi mok (rKS

TRM = 96 %, rKS IPM = 98 %, rKS ISM = 98 %) niso bile statistično značilne (preglednica 27).

Rezultati primerjave vsebnosti NIV med 120-dnevnim skladiščenjem so prikazani v preglednici 28. V povprečju je bilo zmanjšanje vsebnosti NIV večje kot pri DON. Zmanjšanje vsebnosti NIV ni bilo statistično značilno glede na rezultate *t*-testa za vse kombinacije moke, skladiščnega režima in materiala za pakiranje (preglednica 27). Edina izjema je bila IPM-moka pri 10 °C in P11-vrečka ($t = 3,085$, $df = 4$, $P = 0,037$) in na ta rezultat je verjetno v večji meri vplivala variabilnost vzorčenja in detekcije kot pa preučevani faktorji. Rezultati ANOVE na učinke glavnih preučevanih faktorjev (preglednica 28) so bili enaki kot pri DON. Stopnje zmanjševanja NIV niso bile statistično značilne ($F_{1,72} = 1,38$, $P = 0,2449$) pri različnih mokah (rKS 10 °C = 91 %, rKS 25 °C = 86 %). Razlike v stopnjah ohranjanja NIV med posameznimi pakirnimi materiali so bile statistično značilne pri primerjavi papirnatih vrečk (Pa; rKS = 84 %) in zaprtih plastičnih vrečk (Pl2; rKS = 92 %) ($F_{2,72} = 3,34$, $P = 0,043$) (preglednici 27 in 28). Razlike v ohranjanju NIV med tipi mok (rKS TRM = 86 %, rKS IPM = 92 %, rKS IRG = 89 %) niso bile statistično značilne ($F_{2,72} = 1,00$, $P = 0,374$).

Tehnike mletja lahko signifikantno vplivajo na število mikrobov in na njihovo aktivnost v moki in v pekovskih produktih (Eyles s sod. 1989, Berghofer s sod. 2003). Nekaj sto tisoč mikrobnih spor lahko najdemo v gramu sveže moke takoj po mletju (Weidenborner s sod. 2000, Lugauskas s sod. 2006). Glede na objavljene podatke se mikrobi niso sposobni razvijati in množiti med primernimi skladiščnimi pogoji z 12-odstotno vlažnostjo (vodna aktivnost a_w pod 0,65). V takih pogojih so mikrobi v fazi mirovanja. Stopnja mikrobnega metabolizma v tej fazi ni poznana. Predpostavljamo lahko, da v takih razmerah mikrobi ne morejo signifikantno vplivati na biokemične encimatske reakcije, ki nastajajo med staranjem moke. Na primer: skladiščenje moke z začetno vlažnostjo 18 % pri sobni temperaturi za 16 tednov je povečalo mikrobnost iz 50-200 kolonij na gram na 13×10^3 - $2,7 \times 10^6$ kolonij na gram (colonies per gram) (Daftary s sod. 1970). Pomembno je zagotoviti, da ne prihaja do povečane kondenzacije vlage med skladiščenjem in staranjem

moke, ker to lahko vodi do lokalno povečane vodne aktivnosti moke (a_w 0,95) in omogoči začetek prehoda mikrobov iz faze mirovanja v aktivno fazo.

Pri polnozrnatih mokah lahko pričakujemo večjo število mikrobov kot v standardnih mokah. Mikrobi in encimi iz otrobov so zmešani z endospermom pri polnozrnatih mokah. V poskusu nismo preverjali, ali se mikrobná populacija spreminja med skladiščenjem, in nismo pričakovali mikrobne kvarjenja moke med poskusom, ker so bili skladiščni pogoji tipični in primerni za dolgoročno skladiščenje moke in ohranjanje njene kakovosti in roka uporabe.

Med štirimesečnim obdobjem skladiščenja ni bilo signifikantnih sprememb v lastnostih moke (preglednica 26). Vsebnost vlage se je rahlo spremenila pri moki, skladiščeni v papirnatih vrečkah, praktično enaka pa je ostala pri moki v plastičnih vrečkah. Kislost se je rahlo povečala, posebej pri polnozrnatí moki, skladiščeni v papirnatih vrečkah z dostopom zraka ter zmleti z mlinom kladivarjem. Polnozrnaté moke vsebujejo večji odstotek maščob kot standardne moke, ker so kalčki zmleti z endospermom. Med mletjem polnozrnaté moke z uporabo mlina kladivarja je bila moka segreta do temperature 70–80 °C, kar povzroči povečano oksidacijo maščob in večjo stopnjo kislosti.

Opazene spremembe v lastnostih mok so primerljive z običajnimi spremembami, ki se dogajajo med procesom skladiščenja in staranja moke in so bile opisane s strani mnogih raziskovalcev (Hruškova in Machova 2002, Butt s sod. 2004, Nishio s sod. 2004, Rose s sod. 2008). Zaradi majhnih sprememb v vlažnosti in kislosti lahko predvidevamo, da potekajoči biokemični procesi med staranjem moke (večinoma hidrolitična lipoliza in proteoliza) niso signifikantno posegali v mikotoksinsko molekularno matrico v moki.

Zanimivo je, da so bile v povprečju relativne vsebnosti DON in NIV na koncu skladiščenja manjše (1–29 %) kot na začetku (preglednici 27 in 28). Stopnja zmanjševanja NIV je bila večja kot pri DON. Večina opazovanih razlik se ni statistično značilno razlikovala med seboj. Znano je, da so mikotoksinske vsebnosti v rastlinskih materialih zelo variabilne, zato je pogosto težko ločiti učinek obravnavanja od variabilnih učinkov, povzročenih s

strani vzorčenja. Kljub temu je pri petih ponovitvah zlahka opaziti trend zmanjševanja vsebnosti mikotoksinov. To opažanje nas vodi do predpostavke, da verjetno v moki potekajo procesi, ki vodijo do počasnega zmanjševanja vsebnosti mikotoksinov, vendar so običajni časi skladiščenja oziroma staranja moke prekratki, da bi dosegli signifikantno zmanjšane vsebnosti DON in NIV. Izpostavitve moke okoljski atmosferi rahlo poveča razgradnjo mikotoksinov DON in NIV. Kljub tem rezultatom ni gotovo, da prisotnost zraka signifikantno vpliva na razpad mikotoksinov. Rezultati dokazujejo, da ni nobene razlike pri skladiščenju moke pri 10 °C, ker je mikrobiološko stabilna tudi pri 20–25 °C. Če upoštevamo, da so časi skladiščenja polnozrnatih mok na kmetijah zelo kratki in da se moke navadno skladiščijo v lesenih kaščah ali papirnatih vrečah, lahko trdimo, da v smislu sanitarne nevarnosti tekom skladiščenja praktično ni nobene nevarnosti za porast vsebnosti trihotecenskih mikotoksinov. Le manjši delež kupcev polnozrnatih mok zahteva postarano moko, ki ima boljše pekovske lastnosti za določen izdelek, zato se staranje moke na kmetijah ne izvaja v velikem obsegu. Tudi če bi izvajali večmesečno klasično staranje moke, po naših rezultatih ni nobene nevarnosti, da bi se povečala vsebnost mikotoksinov. Skladiščenje moke s stališča varne verige predelave na kmetijah ni šibka kritična točka v procesu obvladovanja trihotecenskih mikotoksinov.

5 SKLEPI

5.1 Določanje povezave med stopnjo okuženosti klasov in vsebnostjo DON v različnih frakcijah pred in po čiščenju zrnja pri različnih sortah

Na podlagi vizualne ocene okuženosti klasov ne moremo povsem objektivno oceniti vsebnost DON v zrnju. Korelacijski koeficienti med obema parametroma izkazujejo večinoma manj tesno stopnjo povezave. Odpornost oziroma tolerantnost sorte prispeva bistveni del, kajti zmerno okužene sorte s fuzariozo klasa lahko vsebujejo manjše količine toksina kot sorte, ki na njivi kažejo manjšo stopnjo okuženosti, ker so tolerantne na razvoj glive v tkivih. Mehanizmi medsebojne odvisnosti med stopnjo okužbe klasov in obsegom oblikovanja toksinov so pri večini sort v Sloveniji slabo pojasnjeni. Rezultati doktorske disertacije v tej tematiki pomembno prispevajo k splošnemu znanju o dinamiki medsebojnih vplivov v pridelovalnih razmerah v Sloveniji. V našem poskusu se je kot relativno mikotoksikološko stabilna sorta izkazala sorta Renan, kljub temu da ne spada v skupino sort, ki so izrazito tolerantne na fuzarioze, in kot tako jo lahko tudi priporočamo za pridelovanje v pridelovalnem sistemu brez uporabe fungicidov v Sloveniji. Odločilen vpliv na končno vsebnost DON je imela uspešnost čiščenja zrnja posameznih sort. Čeprav so imele tolerantne sorte pred čiščenjem rahlo manjše vrednosti toksinov, so se po čiščenju razmerja obrnila. Tako je sposobnost čiščenja pri sortah z močno občutljivostjo na fuzarioze rezultirala z manjšo končno vrednostjo toksinov. Sama prisotnost bolezni lahko pušča izrazita znamenja na zrnju, tako dobimo manjša, lažja in celo prazna zrna, ki so lahko različno deformirana in obarvana. Pri sorti, ki ob prisotnosti bolezni izrazito reagira s spremembami zrnja, lahko z normalnimi tehnikami čiščenja uspešneje zmanjšamo vsebnost toksinov. Iz literature znano dejstvo, da je večina toksinov v zrnih, katerih velikost je manjša od 2,5 mm, se je tudi v našem poskusu izkazalo za točno.

5.2 Vpliv sorte in pridelovalnega sistema na vsebnost DON po zaključenem procesu priprave na mletje

Ena od predpostavk za pridelovanje zdravega in ekonomsko sprejemljivega pridelka v integriranih načinih pridelave ter pri pridelavi brez uporabe fungicidov je uporaba sort, odpornih na bolezni. V primeru fuzarioze klasa moramo biti pozorni ne samo na odpornost sort na bolezen, ki zmanjša pridelek in poslabša pekovske lastnosti moke, ampak tudi na učinkovitost čiščenja zrnja pri obdelavi zrnja pred mletjem v moko. Pri drugih boleznih žit o zadnjem omenjenem učinku ni potrebno razmišljati. Rezultati raziskave kažejo, da morda vse sorte, ki so odporne oziroma tolerantne na fuzarioze, niso primerne za predelavo v polnozrnato moko. Pri nekaterih od teh je običajno dosežena učinkovitost čiščenja v smislu zmanjševanja toksinov med postopkom čiščenja lahko premajhna, da bi dosegla merila kvalitete za polnozrnato moko (manj kot 750 µg/kg DON v moki pred peko). Pri teh sortah je lahko velik del zrnja na oko videti popolnoma zdrav, vendar vsebuje velike količine mikotoksinov. Pri nekaterih na FHB tolerantnih sortah z obstoječimi postopki čiščenja ne moremo zagotoviti popolne odstranitve zrn, ki vsebujejo zmerne in velike količine toksinov, niti z uporabo naprednih tehnologij čiščenja.

Zaradi nepredvidljive narave fuzarijskih gliv in nastanka njihovih mikotoksinov bi morali žitni pridelovalci in predelovalci (mlinarji, kmetje itd.), ki želijo predelovati zrnje v polnozrnato moko, uporabljati kvalitetne naprave za čiščenje zrnja in se začeti sistematično posluževati hitrih ELISA-testov za določanje vsebnosti mikotoksinov. ELISA-testi so dandanes postali cenovno dostopni in dovolj občutljivi, da pokažejo vsebnosti mikotoksinov pri tolikšni stopnji natančnosti, da se lahko odločamo o primernosti zrnja za mletje v polnozrnato moko. Uporaba ELISA-testov na kmetijah in pri butičnih pekarnah bi bil velik napredek pri obvladovanju pojava povečanih vsebnosti trihotecenskih mikotoksinov v neindustrijski predelovalni verigi.

Žlahtnitelji novih pšeničnih sort bodo morali vzeti v obzir žitno-predelovalne postopke in jim v določeni meri prilagoditi žlahtniteljske načrte pri žlahtnenju na odpornost na

Fusarium spp. Najbrž obstajajo še nekateri tipi sortne odpornosti – tolerance, ki še niso dovolj pojasnjeni in lahko povzročajo nizko stopnjo čiščenja zrnja glede na DON v okviru standardnih tehnik čiščenja zrnja. Verjetno potrebujemo drugačen žlahtniteljski program za pšenične kultivarje, ki so namenjeni za predelavo v tradicionalno polnozrnato moko in bi imeli drugačen tip odpornosti na FHB kot sorte, namenjene za predelavo v standardno belo industrijsko moko. Glede na rezultate naše raziskave lahko opozorimo na možnost obstoja na FHB odpornih oziroma tolerantnih sort, ki lahko imajo pomemben delež zrnja z relativno velikimi vsebnostmi DON, vendar kljub vsemu brez zaznavnih, vidnih simptomov prisotnosti bolezni. Ti tipi odpornih oziroma tolerantnih sort ne rešujejo tveganj okužbe z DON v prehranski verigi od njive do krožnika, posebej če je zrnje predelano brez vmesnega preverjanja stopnje DON. Potrebno bo izvesti še več raziskav, da bi preverili stopnjo mikotoksinov v pšeničnem zrnju, ponujenem potrošnikom s kmetij, in se izognili različnim zdravstvenim tveganjem, ki lahko nastanejo ob dolgotrajnem zauživanju jedi iz “domače” polnozrnate moke.

5.3 Pekovski poskus

Kljub dejstvu da se metode industrijske in tradicionalne priprave testa in kruha v Sloveniji razlikujejo v trajanju časa priprave, uporabi različnih dodatkov in temperaturi peke, kaže, da se v slovenskih razmerah povprečno zmanjšanje DON in NIV s peko kruha ne razlikuje signifikatno glede na industrijsko ali tradicionalno pripravo. V postopku priprave polnozrnatega kruha na kmetijah imajo postopki čiščenja enako pomemben vpliv na količino DON in NIV v kruhu kot tehnike peke kruha. Zmanjšanje obeh toksinov je primerljivo pri obeh načinih peke, vendar je pričakovan razpad pri posameznih tipih mok večji v keramični krušni peči. Vsebnosti DON in NIV v tradicionalnem polnozrnatem kruhu nad dovoljeno mejo (500 µg/kg) so pričakovane le v redkih primerih, ko bi pri peki uporabili moko iz zelo okuženega zrnja zaradi uporabe nekvalitetnih naprav za čiščenje zrnja.

V primeru upoštevanja postopkov, predvidenih za izvedbo v prehranski verigi »from field to fork« (od njive do vilice), glede vsebnosti DON in NIV ne pričakujemo signifikantnih razlik med industrijskim polnozrnatim kruhom, ki je na voljo v supermarketih in pekarnah, ter polnozrnatim kruhom, ki je na voljo na kmetijah in v posebnih trgovinah. Pričakovane vsebnosti DON in NIV pri polnozrnatih kruhih so malce večje kot pri kruhu, pripravljenem iz fine industrijske moke, vendar ne toliko večje, da bi bilo ogroženo zdravje potrošnikov, ki uživajo tradicionalni polnozrnatih kruh.

5.4 Skladiščni poskus z moko

Iz rezultatov našega poskusa sklepamo, da skladiščenje polnozrnate pšenične moke za nekaj mesecev pri normalnih sobnih pogojih (20–25 °C, 13-odstotna vlaga moke in 60–70% r. z. v.) ne vpliva signifikantno na vsebnost trihotecenov (DON in NIV) v moki. Pekarne na kmetijah, ki izvajajo tradicionalno staranje polnozrnate moke s skladiščnimi pristopi, podobnimi našim, ne rabijo biti zaskrbljene glede potencialnega povečanja vsebnosti DON in NIV tekom skladiščenja moke. V pogojih, podobnim našim (normalni skladiščni pogoji), ni možnosti povečanja vsebnosti mikotoksinov zaradi aktivnosti fuzarijskih gliv. Prav nasprotno, vsebnosti DON in NIV se lahko med skladiščenjem celo zmanjšujejo. Razpad DON in NIV poteka najhitreje pri moki, skladiščeni pri 25 °C v odprtih papirnatih vrečkah. Med skladiščenjem pri 10 °C in skladiščenjem pri 25 °C ni bilo signifikantnih razlik v vsebnosti toksinov po koncu skladiščenja. V kolikor se skladiščenje moke na kmetijah in butičnih pekarnah izvaja pri sobni temperaturi in ima moka manj kot 12 % vlage (a_w vsaj 70) ni nobene nevarnosti za razvoj fuzarijskih gliv v moki. Po naši oceni skladiščenje moke ne predstavlja kritične točke v procesu obvladovanja povečanih vsebnosti trihotecenskih toksinov v izdelkih iz krušnih žit. Skladiščni časi na kmetijah so kratki, tako da tudi tradicionalni načini skladiščenja ne omogočajo razvoja fuzarijskih gliv v moki. Postopki skladiščenja zrnja pred mletjem so na nekaterih kmetijah pri dolgoročnem skladiščenju bistveno bolj kritična točka varne verige od samega skladiščenja moke.

5.5 Ukrepi za zmanjševanje tveganj zaradi povečanih vsebnosti trihotecenskih mikotoksinov v izdelkih iz nekonvencionalnih žit, predelanih v neindustrijski predelovalni verigi (tehnološka navodila)

Vreme je zdaleč najpomembnejši in neobvladljiv dejavnik pri okužbah s fuzariozami in pri oblikovanju mikotoksinov, medtem ko so sortne lastnosti pšenic (odpornost/toleranca) ter agrotehnik pridelave dejavniki v pridelavi, na katere ima pridelovalec žit večji vpliv. Ukrepe za obvladovanje pojave fuzarijskih mikotoksinov v pridelovalno-predelovalni verigi žit lahko razdelimo na več sklopov.

5.5.1 Ukrepi pred setvijo žit

- Pred setvijo žit je priporočljivo globoko zadelati rastlinske ostanke predposevka ali jih v čim večji meri odstraniti s polja.
- Minimalna obdelava tal je s stališča mikotoksinov lahko tvegana; pred setvijo žit priporočamo uporabo pluga in globoko oranje na globino 20–25 cm.
- Omogočiti je potrebno čim boljši razpad žetvenih ostankov v zemlji (tla, ki so biološko aktivna, omogočajo hitrejši razkroj žetvenih ostankov; na manjše koščke razsekani ostanki predposevka razpadajo hitreje).
- Kolobar je potrebno zasnovati čim širše s čim več botanično nesorodnimi členi (vključevanje križnic, metuljnic, oljnic itd.). Priporočen ukrep je izogibanje setve koruze v kolobarju kot predposevek žitom.
- Priporočena je uporaba sort, ki imajo preverjeno tolerantnost na fuzarioze (v naših raziskavah se je kot taka sorta izkazala sorta Renan). Poudariti je potrebno, da sama odsotnost bolezenskih znamenj ne pomeni absolutno manjše vsebnosti mikotoksinov v zrnju. Presoja primernosti sorte zgolj na opazovanju zunanjih bolezenskih znamenj med rastno dobo in na zrnju ob žetvi ni možna.
- Izbrane sorte naj imajo čim krajši čas dozorevanja in posledično zgodnejši termin žetve. Na splošno je premalo informacij glede obnašanja posameznih sort glede

tolerantnosti na fuzarioze med rastno dobo, skladiščenjem ter nadaljnjo obdelavo zrnja.

- Potrebno je opraviti posebno presojo primernosti sort za pridelavo in nadaljnjo predelavo zrnja na neindustrijski način. Standardni sortni poskusi tega preverjanja ne omogočajo in so za ta namen metodološko neprimerni.
- Za potrebe ekološkega kmetovanja je potrebno razviti dodatne metode preverjanja sort. Sam sortni poskus se mora nadaljevati tudi s skladiščnim poskusom in tudi s poskusom za analizo vsebnosti mikotoksinov v polizdelkih, ki se proizvedejo na načine, ki so v uporabi v ekoloških, neindustrijskih predelovalnih sistemih. Le na takšen način lahko objektivno presodimo, katere sorte so primerne za ekološki ali drug alternativni pridelovalni in predelovalni sistem.

Priporočamo, da bi se na ravni države skupaj s semenarskimi podjetji izvedle stalne raziskave, ki bi omogočale presojo in izdelavo list »mikotoksikološko« varnejših sort in vzpostavitev rednega ločenega monitoringa sort, primernih za ekološko pridelavo. Te bi nato kmetijski svetovalci lahko v praksi svetovali za setev pridelovalcem pšenice.

5.5.2 Ukrepi med rastno dobo

- Priporočamo setev v zgodnjih terminih priporočenega časa setve s priporočeno minimalno setveno normo. Gostota posevka lahko vpliva na lokalno mikroklimo in lahko ustvarja pogoje za primarne okužbe s fuzariozami. Pregosti posevki žit so izpostavljeni različnim oblikam fiziološkega stresa zaradi povečanih učinkov znotrajvrstnega tekmovanja in sprememb v morfološki zgradbi tkiv, s čimer je povečana njihova dovzetnost za okužbe in zmanjšana tolerantnost za poškodbe, ki jih naredijo glive. Pretirana rast v višino kot posledica tekmovanja lahko tudi vpliva na lažje primarne okužbe. Celice takih rastlin imajo tanjše celične stene, medcelični prostor je večji in primarne okužbe s strani glivnega micelija so v takih pogojih hitrejše in lažje. Take »pretegnjene« celice rabijo več vode in hranil za svoj

- normalen obstoj, zato je tudi mobilizacija omenjenih snovi hitrejša, to pa ima lahko za posledico, da ima micelij gliv na začetku okužbe na razpolago več hranljivih snovi in se v večji meri lahko naseli na rastlini gostiteljici.
- Dognojevanje je potrebno izvesti v pravem času in s pravilno količino gnojil. Mnogo raziskovalcev je povezal interakcijo med dognojevanjem z dušikom in stopnjo FHB. Enako lahko odsotnost dostopnega dušika vodi k stresnemu okolju za rastline in povečanemu tveganju za okužbe. Prekomerno dognojevanje z dušikom lahko vodi do poleganja rastlin, kjer se lahko tvori tudi do 10-krat več toksinov kot v sestojih žit, ki niso polegli.
 - Posebno pozornost moramo nameniti pravilni uporabi fitofarmaceutskih sredstev. Fitofarmaceutska sredstva je potrebno uporabljati v skladu z načeli dobre kmetijske prakse, navodili za uporabo, ostalimi predpisi, ki urejajo posamezne pridelovalne sheme, ter raznimi okoljskimi predpisi (vodovarstvena območja ipd.). Sama uporaba fungicidov v letih, ugodnih za razvoj fuzarioz, ne more popolnoma preprečiti razvoja gliv, ki tvorijo mikotoksine na žitu. Zato je potrebno uporabljati pripravke, ki učinkovito delujejo na te glive. Preventivna uporaba je pogoj za dobro delovanje pripravka, zato jih je potrebno aplicirati v optimalnem času. Nepravilna uporaba lahko vodi v povečanje vsebnosti mikotoksinov kljub navidezni odsotnosti rastlinskih bolezni. Nekatere aktivne snovi (npr. azoksistrobin) nimajo dokazanega delovanja na fuzarijske glive, nasprotno pa lahko povzročijo propad nekaterih drugih antagonističnih gliv, ki ovirajo razvoj fuzarijskih gliv. Preko mehanizma izključevanja antagonističnih gliv lahko uporaba azoksistrobina povzroči povečanje vsebnosti mikotoksinov. Zadovoljivo učinkoviti so novejši pripravki na podlagi aktivnih snovi iz skupine triazolov.
 - V tuji literaturi lahko zasledimo (stran 45), da je pri ekološki pridelavi žit (brez uporabe fungicidov) možno pričakovati celo manjšo stopnjo mikotoksinov kot pri konvencionalni pridelavi. Ob pregledu literature lahko spoznamo, da ta trditev (oziroma rezultati raziskav) temelji na velikih pridelovalnih sistemih velikih držav, kjer so določeni ukrepi (kolobarjenje, gnojenje itd.) nepravilno izvajani.
 - Visoka gostota plevelov lahko prav tako vpliva na stopnjo okužbe s fuzariozami. Priporočeno je mehanično zatiranje plevelov z uporabo česal. Mehanično

- odstranjevanje plevelov ima mnogo pozitivnih učinkov na rast rastlin in posledično na odpornost rastlin na primarne okužbe. To velja tudi pri fuzariozah žit.
- Zatiranje škodljivcev med rastno dobo pri žitih ne vpliva v veliki meri na vsebnost mikotoksinov, lahko pa pripomore k ustvarjanju manj stresnega okolja za rastlino. Pri nekaterih drugih rastlinah ima zatiranje med rastno dobo bistveno večji vpliv na mikotoksine.
 - Žetev je potrebno izvesti pri ustrezni vsebnosti vlage v zrnju in z ustreznimi stroji. Največ toksinov se nahaja v drobnih, izmaličenih ter lažjih zrnih. S pravilno nastavitvijo pretresal kombajnov ter vetra pri puhalih lahko večino teh zrn odstranimo.
 - Če v posameznih letih prihaja do pojavov nadpovprečne stopnje okuženosti na lokalnih območjih, bi bilo priporočljivo zrnje s takšnih območij posebej obravnavati pri odkupu in skladiščenju.

Priporočamo vzpostavitev prognostičnih sistemov z uporabo nam prilagojenih modelov za napovedovanje pojava obdobj okužb s fuzariozami. Dobro bi bilo vzpostaviti sistematične poskuse z žiti po različnih regijah in spremljati, kako vplivajo določeni dejavniki na vsebnost mikotoksinov v zrnju v različnih sezonah (natančna določitev klimatskih pogojev preko celotnega leta, natančno spremljanje agrotehnike pridelave žita, vpliva različnih sort, vpliva regije itd.). S temi zbranimi podatki bi v naslednjih letih lahko ustvarili prognostični model za napovedovanje pričakovanih vsebnosti mikotoksinov. Ta model bi lahko služil tudi za preventivne napovedi zatiranja, napovedovanja kvalitete žetve ipd. Kmetijsko-svetovalna služba bi morala uvesti bolj natančno svetovanje glede uporabe FFS in priporočati samo tista sredstva, ki imajo ustrezen zaviralni vpliv na tvorbo mikotoksinov (možnost zlorab!). Za to bi potrebovala hitrejši dostop do informacij glede rezultatov poskusov. Pretok informacij in njihova implementacija v praksi sta še vedno prepočasna.

5.5.3 Ukrepi po žetvi

- V kolikor bi zrnje poželi z neprimerno vlažnostjo, bi morali takoj izvesti sušenje. Pri tem bi morali redno meriti vlago (vzorec mora biti reprezentativen!) in sušiti na malce nižjo vlago, kot jo priporočajo za skladiščno stabilnost (namesto na 14, priporočamo sušenje vsaj na 12 % vlage pri pšenici).
- Za skladiščenje je potrebno zagotoviti razkužen prostor, čist, suh in temen, brez dostopa različnih živali. Priporočamo tedensko spremljanje na prisotnost skladiščnih škodljivcev ter kvarnih procesov. V kolikor prihaja do pojava škodljivcev, je potrebno izvesti zatiranje, pri kvarnih procesih pa je potrebno odstraniti pokvarjeno zrnje oziroma z ukrepi preprečiti nadaljnji postopek kvarjenja (dosuševanje, premetavanje, transport v drugi silos itd.).
- Pri industrijskem mletju je sama tehnika mletja in zmanjševanja toksinov relativno dobro izdelana, težave nastopijo pri domačem mletju in uporabi tega zrnja. Uporabi primitivnih mlevskih strojev, ki praktično nimajo mlevskih odpadkov (zunanji deli zrnja, ki vsebujejo največje količine mikotoksinov se premalo odstranijo), bi se morali v letih s pričakovanimi velikimi količinami mikotoksinov v zrnju izogibati (tu bi v poštev prišel model prognostične napovedi mikotoksinov). V teh letih bi v končnem produktu oziroma med pripravo testa in peko kruha prišlo do premajhne redukcije toksinov.
- Na splošno se še pri domačih neindustrijskih tehnikah mletja zrnja, priprave in peke kruha ne izvajajo meritve vsebnosti toksinov (stroškovni element), kar še dodatno poslabšuje kakovost monitoringa nad stanjem vsebnosti mikotoksinov v neindustrijski verigi. Priporočamo izvedbo vsaj hitrih ELISA-testov, katerih natančnost je v zadnjih letih že na sprejemljivi stopnji za kakovostno določanje vsebnosti v območjih, ki so potrebna za preverjanje skladnosti produktov z zakonskimi predpisi.

6 POVZETEK

Slovenskih raziskav o vplivih pridelovalne tehnike in neindustrijske predelave pšeničnega zrnja na vsebnost trihotecenskih mikotoksinov v moki je, sodeč po analizi dostopnih znanstvenih virov, izredno malo. Raziskave, izvedene v okviru doktorske disertacije, se dotikajo nekaterih segmentov obvladovanja pojava trihotecenskih mikotoksinov (DON – deoksinivalenol in NIV – nivalenol) pri pridelovanju in predelavi pšenice v slovenskih pridelovalnih sistemih. Izvedli smo primerjavo med pridelovalnim sistemom pšenice brez uporabe kemičnega varstva (pridelava brez uporabe fungicidov) in integrirano pridelavo ter med predelavo pšeničnega zrnja skozi poenostavljene postopke priprave moke in skladiščenja moke na neindustrijski način (na kmetijah in neposredno pri potrošnikih) z industrijskim načinom, kot se izvaja v mlinskih podjetjih v Sloveniji. Ugotovili smo, da pri pridelovanju pšenice določenih sort obstaja povečano tveganje za preveliko vsebnost trihotecenskih mikotoksinov v zrnju in pozneje v polnozrnati moki, pridobljeni iz takšnega zrnja. Povečano tveganje je posledica tega, da obstajajo nekatere tolerantne sorte, ki kljub intenzivni okužbi s fuzariozami ne utrpijo velikih sprememb na tkivih zrnja. To smo dokazali z zelo šibkimi korelacijskimi povezavami med stopnjo okuženosti zrnja in vsebnostjo DON in NIV. S postopki čiščenja pri takšnih sortah ne moremo v dovolj velikem obsegu zmanjšati vsebnost DON in NIV. Moka, pridobljena iz takšnega zrnja, predstavlja povečano tveganje za potrošnike polnozrnate moke. Večina sodobnih raziskav obvladovanja fuzarijskih mikotoksinov v žitih obravnava industrijske načine predelave zrnja in ne posveča pozornosti neindustrijskim načinom predelave, ki pa so ponovno v porastu zaradi povečanega povpraševanja potrošnikov po polnozrnati moki. Potrebno je povečati obseg raziskav neindustrijskih načinov predelave zrnja. Pri primerjavi učinkovitosti čiščenja zrnja na kmetiji in v industrijskem obratu smo ugotovili, da je učinkovitost čiščenja pri preprostih napravah na kmetiji za 30 % manjša od učinkovitosti čiščenja v industrijskem obratu. Pri čiščenju zrnja na kmetiji smo dosegli 20,8 in 15,5-odstotno zmanjšanje vsebnosti mikotoksinov (DON in NIV), pri industrijskem čiščenju pa 38,2 % ter 34,8 %. Rezultati kažejo, da je za izboljšanje obvladovanja tveganj glede DON in NIV potrebno povečati učinkovitost čiščenja v neindustrijskih obratih (posodobitev

opreme). Analizirana je bila tudi dinamika spreminjanja vsebnosti DON in NIV v različnih vrstah moke, skladiščene v različnih razmerah za daljši čas. Ugotovili smo, da med skladiščenjem polnozrnatih mok, pridobljenih iz pridelanega zrnja brez uporabe fungicidov, na kmetijah ni možnosti za povečevanje vsebnosti mikotoksinov DON in NIV. Vsebnosti se med skladiščenjem lahko celo zmanjšajo. V poskusih s peko kruha iz različnih vrst mok v krušni in industrijski peči smo ugotovili, da lahko med peko DON in NIV razpadeta v dokaj velikem obsegu (do 73,4 % DON ter 38,4 % NIV), vendar ne popolnoma. Obseg razpadanja pri peki v krušni peči (do 73,4 % DON) ali v industrijski peči (do 67,4 % DON) je primerljiv. Zmanjšanje vsebnosti toksinov pri peki z industrijsko polnozrnato moko je bilo veliko večje (67,4–73,4 %) kot pri peki polnozrnatega kruha iz tradicionalne polnozrnate moke (37,1–39,4 %).

7 SUMMARY

Slovenian researches on the effects of cultivation techniques and non-industrial processing of wheat grain on *Fusarium* mycotoxin content of the flour are according to the analysis of the available scientific literature scarce. Research carried out within the framework of the doctoral thesis are touching some segments of controlling trichothecene occurrence of mycotoxins (DON – deoxynivalenol and NIV – nivalenol) in the Slovenian systems of wheat production and processing. A comparison was made among the production system without the use of chemical methods for disease controlling (production without using fungicides) and integrated production, processing of wheat grain through simplified processes of flour preparation and storage in non-industrial processing (on-farm and direct to consumers) and with industrial processing, as implemented in the mill business in Slovenia. It was found that in the production of certain wheat varieties increased risk exists for excessive content of trichothecene mycotoxins in grain and later in the whole wheat flour obtained from such grains. The increased risk is consequence of the fact that there are some tolerant varieties of wheat which do not suffer any significant changes in grain tissues despite intensive infection of *Fusarium* fungi. We proved this with a very weak correlations between the degree of grain by *Fusarium* contamination and DON/NIV content in grain. Cleaning procedures in such varieties can not reduce the content of DON and NIV on a sufficient level. Flour, produced from such grains represents an increased risk to consumers of whole wheat flour. Most modern research is focused towards management of *Fusarium* mycotoxins in cereals processed in industrial methods of processing grain and give no attention to non-industrial processing methods, which are again on the rise due to increased consumer demand for whole wheat flour. It is necessary to increase studies of non-industrial methods of grain processing. When comparing the effectiveness of cleaning grain on the farm and in the industrial plant, we found that the cleaning efficiency of simple machines on the farm could have 30 % lower efficiency compared to the industrial plant cleaning. When cleaning the grain on the farm, we achieved 20,8 % and 15,5 % reduction in the levels of mycotoxins (DON and NIV), and 38,2 % and 34,8 % for industrial cleaning, respectively. The results suggest that

improvement of risk management of DON and NIV is necessary to increase cleaning efficiency in non-industrial processing (hardware modernization).

Analysis of the dynamics of changing DON and NIV concentrations in different types of flour stored under different conditions for a longer time were also carried out. We found that during the storage of whole wheat flour obtained from the organic farm no possibility exists of increasing DON and NIV concentrations. Concentrations may even be reduced during storage. In experiments with the bread baking from different types of flour in ceramic (traditional) and industrial ovens, we found that during baking DON and NIV decayed to a fairly large extent (73,4 % to 38,4 % of DON and NIV), but not completely. Extent of decay in baking bread in the ceramic oven (up to 73,4 % of DON) or in industrial furnaces (up to 67,4 % of DON) is comparable. Reduction of toxins in baking with whole-wheat flour industry was much higher (67,4 to 73,4% DON) than the rate of reduction in baking bread from organic whole wheat flour (37,1 to 39,4 %).

8 LITERATURA

1. Abbas HK, Mirocha CJ, Pawlosky RJ, Pusch, DJ. 1985. Effect of cleaning, milling and baking on deoxynivalenol in wheat. *Applied Environmental Microbiology*, 50: 482–486.
2. Abbas HK, Mirocha CJ, Rosiles R, Carvajal M. 1988. Decomposition of zearalenone and deoxynivalenol in the process of making tortilla from corn. *Cereal Chemistry*, 65: 15–19.
3. Abecassis J, Feillet P. 2003. Basis of knowledge on deoxynivalenol distribution in durum wheat, semolina and pasta products. V: González-Osnaya L, Cortés C, Soriano JM, Moltó JC, Mañes J. 2011. Occurrence of deoxynivalenol and T-2 toxin in bread and pasta commercialised in Spain. *Food Chemistry*, 124: 156–161.
4. Accerbi M, Rinaldi VEA, Ng PKW. 1999. Utilization of highly deoxynivalenol-contaminated wheat via extrusion processing. *Journal of Food Protection*, 62, 12: 1485–1487.
5. Al-Anat L, Petzinger E. 2006. Immunotoxic activity of ochratoxin A. *Journal of Veterinary Pharmacology & Therapeutics*, 29, 2: 79–90.
6. ARSO. 2008. Meteorološki letopis 2008 – mesečne vrednosti meteoroloških spremenljivk 1. /Elektronski vir/ Ljubljana. Ministrstvo za okolje in prostor. Agencija Republike Slovenije za okolje. http://www.arso.gov.si/vreme/podnebje/meteorolo%C5%A1ki%20letopis/2008_mes_1.pdf (7. 12. 2012).

7. ARSO. 2007. Meteorološki letopis 2007 – mesečne vrednosti meteoroloških spremenljivk 1. /Elektronski vir/ Ljubljana. Ministrstvo za okolje in prostor. Agencija Republike Slovenije za okolje. http://www.arso.gov.si/vreme/podnebje/meteorolo%C5%A1ki%20letopis/2007_mes_1.pdf (7 12. 2012).
8. Ayres JC, Mundt JO, Sandine WE. 1980. Microbiology of Foods. V: Jay MJ. 2005. Modern Food Microbiology. 6th ed. Chapter 30: Mycotoxins: 709–726.
9. Bacon CW, Yates IE, Hinton DM, Filmore M. 2001. Biological control of *Fusarium moniliforme* in maize. Environmental Health Perspectives, 109,2: 325–343.
10. Bai GH, Plattner R, Desjardins A, Kolb F. 2001. Resistance to fusarium head blight and deoxynivalenol accumulation in wheat. Plant Breeding, 120: 1–6.
11. Bakan B, Melcion D, Richard-Molard D, Cahagnier B. 2002. Fungal growth and *Fusarium* mycotoxin content in isogenic traditional and genetically modified maize grown in France and Spain. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 50, 4: 728–731.
12. Balzer A, Tardieu D, Bailly JD, Guerre P. 2004. The trichothecenes: the nature of toxins, natural occurrence in foods and feeds and ways of combating their occurrence. Revue de Médecine Vétérinaire, 155, 6: 299–314.
13. Belli N, Mitchell D, Marín S, Alegre I, Ramos AJ, Magana N, Sanchis V. 2005. Ochratoxin A-producing fungi in Spanish wine grapes and their relationship with meteorological conditions. European Journal of Plant Pathology, 113, 3: 233–239.
14. Bennett GA, Richard JL. 1996. Influence of processing on *Fusarium* mycotoxins in contaminated grains. Food Technology, 50: 235–239.

15. Bennett JW, Klich M. 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 16, 3: 497–516.
16. Berghofer LK, Hocking AD, Miskelly D, Jansson E. 2003. Microbiology of wheat and flour milling in Australia. *International Journal of Food Microbiology*, 113: 137–149.
17. Berleth M, Backes F, Krämer J. 1998. Schimmelpilzspektrum und Mykotoxine (Deoxynivalenol und Ochratoxin A) in Getreideproben aus ökologischem und integriertem Anbau. *Agribiological Research*, 51, 4: 369–376.
18. Bernhoft A, Clasen EP, Kristoffersen BA, Torp M. 2010. Less *Fusarium* infestation and mycotoxin contamination in organic than in conventional cereals. *Food Additives and Contaminants*, 27, 6: 842–852.
19. Bernhoft A, Torp M, Clasen PE, Løesb AK, Kristoffersena AB. 2012. Influence of agronomic and climatic factors on *Fusarium* infestation and mycotoxin contamination of cereals in Norway. *Food Additives and Contaminants*, 29, 7: 1129–1140.
20. Beyer M, Klix MB, Klink H, Verreet JA. 2006. Quantifying the effects of previous crop, tillage, cultivar and triazole fungicides on the Deoxynivalenol content of wheat grain – a review. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 113: 241–246.
21. Beyer M, Klix MB, Verreet JA. 2007. Estimating mycotoxin contents of *Fusarium*-damaged winter wheat kernels. *International Journal of Food Microbiology*, 119: 153–158.
22. Beyer M, Pogoda F, Ronellenfitsch KF, Hoffmann L, Udelhoven T. 2010. Estimating deoxynivalenol contents of wheat samples containing different levels of *Fusarium*-damaged kernels by diffuse reflectance spectrometry and partial least square regression. *International Journal of Food Microbiology*, 142, 3: 370–374.

23. Birzele B, Meier A, Hindorf H, Krämer J, Dehne HW. 2002. Epidemiology of *Fusarium* infection and deoxynivalenol content in winter wheat in the Rhineland, Germany. *European Journal of Plant Pathology*, 108: 667–673.
24. Birzele B, Prange A, Krämer J. 2000. Deoxynivalenol and ochratoxin A in German wheat and changes of level in relation to storage parameters. *Food additives and contaminants*, 17, 12: 1027–1035.
25. Blandino M, Minelli L, Reyneri A. 2006. Strategies for the chemical control of *Fusarium* head blight: Effect on yield, alveographic parameters and deoxynivalenol contamination in winter wheat grain. *European Journal of Agronomy*, 25, 3: 193–201.
26. Blandino M, Reyneri A, Vanara F. 2008. Influence of nitrogen fertilization on mycotoxin contamination of maize kernels. *Crop Protection*, 27, 2: 222–230.
27. Blandino N, Haidukowski M, Pascale M, Plizzari L, Scudellari D, Reyneri A. 2012. Integrated strategies for the control of *Fusarium* head blight and deoxynivalenol contamination in winter wheat. *Field Crops Research*, 133: 139–149.
28. Blout WP. 1961. Turkey “X” disease. V: Bennett JW, Klich M. 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 16, 3: 497–516.
29. 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.
30. Brennan JM, Faganel B, VanMaanen A, Cooke B, Doohan FM. 2003. Studies on invitro growth and pathogenicity of *Fusarium* fungi. *European Journal of Plant Pathology*, 109: 577–587.

31. Brera C, Debegnach F, Grossi S, Miraglia M. 2004. Effect of industrial processing on the distribution of fumonisin B1 in dry milling corn fractions. *Journal of Food Protection*, 67, 6: 1261–1266.
32. Bretz M, Beyer M, Cramer B, Knecht A, Humpf HU. 2006. Thermal degradation of the *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 17: 6445–6451.
33. Bruns AH. 2003. Controlling Aflatoxin and Fumonisin in Maize by Crop Management. *Journal of Toxicology. Toxin Reviews*, 22, 2–3: 153–173.
34. Buerstmayr H, Lemmens M, Berlakovich S, Ruckenbauer P. 1999. Combining ability of resistance to head blight caused by *Fusarium culmorum* (W.G. Smith) in the F1 of a seven parent diallel of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*, 110, 3: 199–206.
35. Bullerman LB, Bianchini A. 2007. Stability of mycotoxins during food processing. *International Journal of Food Microbiology*, 119, 1–2: 140–146.
36. Butt MS, Nasir M, Akhtar S, Sharif K. 2004. Effect of moisture and packaging on the shelf life of wheat flour. *Journal of Food Safety*, 5: 1–6.
37. Canady AR, Coker DR, Egan SK, Krska R, Kuiper-Goodman T, Olsen M, Pestka J, Resnik S, Schlatter J. 2001. Deoxynivalenol. /Elektronski vir/ Food and Drug Administration, Washington. <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je05.html> (27. 12. 2009).
38. Cano-Sancho G, Valle-Algarra FM, Jiménez M, Burdaspal P, Legarda TM, Ramos AJ, Sanchis V, Marín S. 2011. Presence of trichothecenes and co-occurrence in cereal-based food from Catalonia (Spain). *Food Control*, 22, 3–4: 490–495.
39. Castegnaro M, Canadas D, Vrabcheva T, Petkova-Bocharova T, Chernozemsky IN, Pfohl-Leszkowicz A. 2006. Balkan Endemic Nephropathy:

- Role of Biomarkers through ochratoxins A. *Molecular Nutrition & Food Research*, 50, 6: 519–529.
40. Castelo MM, Summer SS, Bullerman LB. 1998. Stability of fumonisins in thermally processed corn products. *Journal of Food Protection*, 61, 8: 1030–1033.
41. Cazzaniga D, Basílico JC, Gonzáles RJ, Torres RL, De Greef DM. 2001. Mycotoxins inactivation by extrusion cooking of corn flour. *Letters in Applied Microbiology*, 33: 144–147.
42. Cenkowski S, Pronyk C, Zmidzinska D, Muir WE. 2007. Decontamination of food products with superheated steam. *Journal of Food Engineering*, 83, 1: 68–75.
43. Chakraborty S, Murray GM, Magarey PA, Yonow T, O'Brien RG, Croft BJ, Barbetti MJ, Old KM, Dudzinski MJ, Sutherst RW, Penrose LJ, Archer C, Emmett RW. 1998. Potential impact of climate change on plant diseases of economic significance to Australia. *Australasian Plant Pathology*, 27, 1: 15–35.
44. Champeil A, Fourbet JF, Dore T, Rossignol L. 2004. Influence of cropping system on Fusarium head blight and mycotoxin levels in winter wheat. *Crop Protection*, 23: 531–537.
45. Chase AR. 2004. Fungicides for the Future. /Elektronski vir/ *Greenhouse Product News*, 14: 11. <http://www.gpnmag.com/Fungicides-for-the-Future-article5608> (1. 6. 2009).
46. Chelkowski J, Perkowski J. 1992. Mycotoxins in cereal grain (part 15). Distribution of deoxynivalenol in naturally contaminated wheat kernels. *Mycotoxin Research*, 8: 27–30.
47. Chemblink. 2010. Zearalenone. /Elektronski vir/ <http://www.chemblink.com/products/17924-92-4.htm> (3. 12. 2012)

48. Chen CC, McCarl AB. 2001. An investigation of the relationship between pesticide usage and climate change. *Climate Change*, 50: 475–487.
49. Cliver DO. 1999. *Eating Safely: Avoiding Foodborne Illness*, 2nd. ed. New York. American Council on Science and Health. V: Magkos F, Arvaniti F, Zampelas A. 2006. Organic Food: Buying More Safety or Just Peace of Mind? A Critical Review of the Literature. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46: 23–56.
50. Clouvel P, Bonvarlet L, Martinez A, Lagouarde P, Dieng I, Martin P. 2008. Wine contamination by ochratoxin A and relation to vine environment. *International Journal of Food Microbiology*, 123, 1–2: 74–80.
51. Codex Committee on Contaminants in Food. 2010. Proposed draft maximum levels for deoxynivalenol in cereals and cereal-based food. http://www.cclac.org/comites/doc_grupos/g_cf/WG%20DON%20Cereal/PROPOSED%20DRAFT%20MAXIMUM%20LEVELS%20FOR%20DEOXYNIVALENOL%20IN%20FOOD%20Dec%202010.doc (5. 8. 2012 – preverjeno Kolmanič).
52. Committee on Protection Against Mycotoxins, Board on Toxicology and Environmental Health Hazards, Commission on Life Sciences, National Research Council. 1983. *Protection Against Trichothecene Mycotoxins*. Washington, DC: National Academy Press: 227 str.
53. Cowger C, Arrellano C. (2010). Plump kernels with high deoxynivalenol linked to late *Gibberella zeae* infection and marginal disease conditions in winter wheat. *Phytopathology*, 100: 719–728.
54. Creppy EE. 2002. Update of survey, regulation and toxic effect of mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters*, 127: 19–28.
55. Czajkowska AB, Lukanowski A, Sadowski C. 1999. Comparison of winter wheat healthiness cultivated on ecological and conventional farming system.

- V: Vanova M, Klem K, Misa P, Matusinsky P, Hajslova J, Lancova K. 2008. The content of *Fusarium* mycotoxins, grain yield and quality of winter wheat cultivars under organic and conventional cropping systems. *Plant Soil Environment*, 54, 9: 395–402.
56. D’Mello JPF, MacDonald AMC, Postel D, Dijksma WTP, Dujardin A, Placinta CM. 1998. Pesticide use and mycotoxin production in *Fusarium* and *Aspergillus* phytopathogens. *European Journal of Plant Pathology*, 104, 8: 741–751.
57. D’Mello JPF, MacDonald AMC. 1997. Mycotoxins. *Animal Feed Science Technology*, 69: 155–166.
58. Daftary RD, Pomeranz Y, Saur DB. 1970. Changes in wheat flour damaged by mould during storage-effects in lipid, lipoprotein and protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 18: 613–616.
59. Dahleen LS, Okubara PA, Blechl AE. 2001. Transgenic approaches to combat *Fusarium* head blight in wheat and barley. *Crop Science*, 41: 628–637.
60. Dänicke S, Valenta H, Gareis M, Lucht H, Reichenbach H. 2005. On the effects of a hydrothermal treatment of deoxynivalenol (DON)-contaminated wheat in the presence of sodium metabisulphite (NaSO) on DON reduction and on piglet performance. *Animal Feed Science and Technology*, 118, 1: 93–108.
61. Dardis JV, Walsh EJ. 2002. Control of *Fusarium* head blight in wheat under Irish growing conditions: current situation and future prospects. *Biology and Environment Proceedings of the Royal Irish Academy*, 102B, 2: 93–103.
62. Dawson WAJM, Baterna GL, Köhl J, De Haas BH, Lombaers van der Plas CH, Corazza L, Luonga L, Galli M, Jestoi M, Rizzo A. 2002. Controlling infection of cereal grain by toxigenic *Fusarium* species using fungal competitors. *Proceedings of the BCPC Conference – Pests and Diseases 2002*, vol. 1, British Crop Protection Council, Farnham, 1: 347–352.

63. De Wolf ED, Madden LV, Lipps PE. 2003. Risk assessment models for wheat *Fusarium* head blight epidemics based on within-season weather data. *Phytopathology*, 93, 4: 428–435.
64. Del Ponte ME, Garda-Buffon J, Badiale-Furlong E. 2012. Deoxynivalenol and nivalenol in commercial wheat grain related to *Fusarium* head blight epidemics in southern Brazil. *Food Chemistry*, 132, 2: 1087–1091.
65. Delwiche SR, Hareland GA. 2004. Detection of scab-damaged hard red spring wheat kernels by near-infrared reflectance. *Cereal Chemistry*, 81, 5: 643–649.
66. Delwiche SR, Pearson TC, Brabec LD. 2005. High-speed optical sorting of soft wheat for reduction of deoxynivalenol. *Plant Disease*, 89, 11: 1214–1219.
67. Desjardins AE, Manandhar G, Plattn RD, Maragos CM, Shrestha K, McCormick SP. 2000. Occurrence of *Fusarium* species and mycotoxins in nepalese maize and wheat and the effect of traditional processing methods on mycotoxin levels. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48, 4: 1377–83.
68. Dexter JE, Clear RM, Preston KR. 1996. *Fusarium* head blight: Effect on the milling and baking of some Canadian wheats. *Cereal chemistry*, 73, 6: 695–701.
69. Dexter JE, Marchylo BA, Clear RM, Clarke JM. 1997. Effect of *Fusarium* head blight on semolina milling and pasta-making quality of durum wheat. *Cereal chemistry*, 74, 5: 519–525.
70. Dill-Macky R, Jones RK. 2000. The effect of previous crop residues and tillage on *Fusarium* head blight of wheat. *Plant Disease*, 84, 1: 71–76.
71. Doohan FM, Brennanand J, Cooke, BM. 2003. Influence of climatic factors on *Fusarium* species pathogenic to cereals. *European Journal of Plant Pathology*, 109, 7: 755–768.

72. Duvik J. 2001. Prospects for reducing fumonisin contamination of maize through genetic modification. *Environmental Health Perspectives*, 109, 2: 337–342.
73. Edwards SG, Pirgozliev SR, Hare MC, Jenkinson P. 2001. Quantification of Trichothecene-Producing *Fusarium* Species in Harvested Grain by Competitive PCR To Determine Efficacies of Fungicides against *Fusarium* Head Blight of Winter Wheat. *Applied Environmental Microbiology*, 67, 4: 1575–1580.
74. Edwards SG. 2009. *Fusarium* mycotoxin content of UK organic and conventional wheat. *Food Additives Contaminants*, 26, 4: 496–503.
75. Engle SJ, Lipps EP, Mills D. 2003. *Fusarium* Head Blight Severity Scale for Winter Wheat. /Elektronski vir/ The Ohio State University Plant Pathology. Extension FactSheet. AC-49–03 <http://ohioline.osu.edu/ac-fact/pdf/0049.pdf> (6. 5. 2008).
76. Enomoto M, Saito M. 1972. Carcinogens produced by fungi. *Annual Review of Microbiology*, 26: 279–312.
77. European Commission. 2007. Adapting to climate change in Europe-Options for EU Action. /Elektronski vir/ Green Paper from the Commission to the Council, the European Parliament, the European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions, COM (2007), 354 final, SEC (2007) 849. European Commission, Brussels. http://www.eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/en/com/2007/com2007_0354en01.pdf (27. 12. 2009).
78. Eyles MJ, Moss R, Hocking AD. 1989. The microbial status of Australian flour and the effects of milling procedures on the microflora of wheat and flour. *Food Australia*, 41: 704–798.
79. Fandohan P, Zoumenou D, Hounhouigan DJ, Marasas WFO, Wingfield MJ, Hell K. 2005. Fate of aflatoxins and fumonisins during the processing of maize

- into food products in Benin. *International Journal of Food Microbiology*, 98, 3: 249–259.
80. FAO. 2002. Discussion paper on deoxynivalenol. Codex Alimentarius Commission, Codex Committee of Food Additives and Contaminants. 35th Session, Arusha, Tanzania, 17–21 March: 1–12.
81. Fermentek biotechnology. 2009. Ochratoxin A. /Elektronski vir/
http://www.fermentek.co.il/ochratoxin_A.htm (3. 12. 2012)
82. Fernandez M, Stolhandeske-Dale S, Zentner RP, Pearse P. 2001. Progress in management of *Fusarium* head blight. *Proceedings of the Second Canadian Workshop on Fusarium Head Blight*: 110–113.
83. Food info. 1999. Aflatoxins /Elektronski vir/ <http://www.food-info.net/uk/tox/afla.htm> (3. 12. 2012)
84. Frisvad JC, Skouboe P, Samson RA. 2005. Taxonomic comparison of three different groups of aflatoxin producers and a new efficient producer of aflatoxin B₁, sterigmatocystin and 3-*O*-methylsterigmatocystin, *Aspergillus rambellii* sp. nov. *Systematic and Applied Microbiology*, 28, 5: 442–453.
85. Fuchs E, Binder EM, Heidler D, Kdska R. 2002. Structural characterization of metabolites after the microbial degradation of type A trichothecenes by the bacterial strain BBSH 797. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 19, 4: 379–386.
86. Fuchs E, Handel J, Binder EM. 2004. LC-MS/LC-UV analysis of type A and B trichothecenes after multifunctional MycoSep® clean-up. V: Yoshizava T. (Editor). 2003. *Proceedings of ISMYCO Conference. New horizons of mycotoxicology for assuring food safety*. Kagawa, Japan: 225–232.

87. Fungal biology. 2004. Secondary metabolites. /Elektronski vir/
<http://bugs.bio.usyd.edu.au/learning/resources/Mycology/Feeding/secndryMetabolites.shtml> (3. 12. 2012)
88. Gärtner BH, Munich M, Kleijer G, Mascher F. 2008. Characterisation of kernel resistance against Fusarium infection in spring wheat by baking quality and mycotoxin assessments. *European Journal of Plant Pathology*, 120, 1: 61–68.
89. Gelderblom WCA, Jaskiewicz J, Marasas WFO, Thiel, PG, Horak RM, Vleggar R, Kriek NPJ. 1988. Fumonisin–mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Applied and Environmental Microbiology*, 54: 1806–1811.
90. Gervais L, Dedryver F, Morlais JY, Bodusseau V, Negre S, Bilous M, Groos C, Trottet M. 2003. Mapping of quantitative trait loci for field resistance to Fusarium head blight in an European winter wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 106, 6: 961–970.
91. Giorgi F, Lionello P. 2008. Climate change projections for the Mediterranean region. *Global and Planetary Change*, 63, 2–3: 90–104.
92. GMO Compass. 2008. Wheat. /Elektronski vir/ http://www.gmo-compass.org/eng/grocery_shopping/crops/22.genetically_modified_wheat.html (14. 11. 2012)
93. Gocho H, Hirai T, Kashio T. 1992. Breeding of »Wheat Norin PL-4« a new germplasm with resistance to scab (*Giberella zea* (Schw.) Petch). *Bulletin of the Kyushu National Agricultural Experiment Station*, 27: 317–331.
94. González-Osnaya L, Cortés C, Soriano JM, Moltó JC, Mañes J. 2011. Occurrence of deoxynivalenol and T-2 toxin in bread and pasta commercialised in Spain. *Food Chemistry*, 124: 156–161.

95. Hagler WM, Towers NR, Mirocha CJ, Eppley RM, Bryden WL. 2001. Zearalenone: mycotoxin or mycoestrogen? Summerell BA, Leslie JF, Backhouse D., Bryden WL, W.Burgess L. (ed.). Fusarium. Paul E. Nelson Memorial Symposium. APS Press, St. Paul, Minnesota: 321–331.
96. Hammond BG, Campbell KW, Pilcher CD, DeGoover TA, Robinson AE, McMillen BL, Spangler SM, Riordan SG, Rice LG, Richard JL. (2004): Lower fumonisin mycotoxin levels in the grain of Bt corn grown in the United states in 2000–2002. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52, 5: 1390–1397.
97. Harcz P, De Temmerman L, De Voghel S, Waegeneers N, Wilmart O, Vromman V, Schmit JF, Moons E, Van Peteghem C, De Saeger S. 2007. Contaminants in organically and conventionally produced winter wheat (*Triticum aestivum*) in Belgium. *Food Additives Contaminants*, 24, 7: 713–720.
98. Hazel CM, Patel S. 2004. Influence of processing on trichothecene levels. *Toxicology Letters*, 153: 51–59.
99. He P, Young LG, Forsberg C. 1993. Microbially detoxified vomitoxin-contaminated corn for young pigs. *Journal of Animal Science*, 71: 963–967.
100. Heier T, Jain SK, Kogel KH, Pons-Kühnemann J. 2005. Influence of N-fertilization and fungicide strategies on fusarium head blight severity and mycotoxin content in winter wheat. *Journal of phytopathology*, 153, 9: 551–557.
101. Hernandez Nopsa FJ, Baenziger PS, Eskridge KM, Peiris KHS, Dowell FE, Harris SD, Wegulo SN. 2012. Differential accumulation of deoxynivalenol in two winter wheat cultivars varying in FHB phenotype response under field conditions. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 34, 3: 380–389.

102. Hidy PH, Baldwin RS, Greasham RL, Keith CL, McMullen JR. 1977. Zearalenone and some derivatives: production and biological activities. *Advances in Applied Microbiology*, 22: 59–82.
103. Haller JS. 1993. Ergotism. V: Kiple KF. (ed.). *The Cambridge world history of human disease*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom: 718–719.
104. Hilton AJ, Jenkinson P, Hollins TW, Parry DW. 1999. Relationship between cultivar height and severity of *Fusarium* ear blight in wheat. *Plant pathology*, 48, 2: 202–208.
105. Hofmann A. 1972. Ergot – a rich source of pharmacologically active substances. V: Swain T. (ed.). *Plants in the development of modern medicine*. Harvard University Press, Cambridge, Mass: 236–260.
106. Hoogenboom LAP, Bokhorst JG, Northolt MD, Van de Vijver LPL, Broex NJG, Mevius DJ, Meijs JAC, Van der Roest J. 2008. Contaminants and microorganisms in Dutch organic food products: a comparison with conventional products. *Food Additives Contaminants*, 25, 10: 1195–1207.
107. Hooker DC, Schaafsma AW, Tamburic-Ilincic L. 2002. Using weather variables pre- and post-heading to predict deoxynivalenol content in winter wheat. *Plant Disease*, 86, 6: 611–619.
108. Hopmans EC. 1997. Patulin: a Mycotoxins in Apples. /Elektronski vir/ *Perishables Handling Quarterly Issue*, 91: 5–6.
<http://ucce.ucdavis.edu/files/datastore/234-166.pdf> (13. 4. 2010)
109. Horsley RD, Pederson JD, Schwarz PB, McKay K, Hochhalter MR, McMullen MP. 2006. Integrated Use of Tebuconazole and *Fusarium* Head Blight–Resistant Barley Genotypes. *Agronomy journal*, 98, 1: 194–197.

110. Hruškova M, Machova D. 2002. Changes of wheat flour properties during short term storage. *Czech Journal of Food Science*, 20: 125–130.
111. Hysek J, Vanova M, Hajšlova J, Brožova J, Sychrova E, Radova-Sypecka Z, Sip V, Sykorova S, Chrpova J, Tvaružek L. 2005. Variation in the production of trichothecene mycotoxin deoxynivalenol (DON) in spring barley varieties after treatment with the fungicides azoxystrobin and tebuconazole. *Plant Protection Science*, 41, 2: 58–62.
112. Jackson LS, Bullerman LB. 1999. Effect of processing on *Fusarium* mycotoxins. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 459: 243–261.
113. Jennings P, Turner JA, Nicholson P. 2000. Overview of *Fusarium* ear blight in the UK; effect of fungicide treatment on disease control and mycotoxin production. *Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference; Pests and Diseases 2000*, vol. 2, British Crop Protection Council, Farnham, 2: 707–712.
114. Jouany JP. 2007. Methods for preventing, decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins in feeds. *Fusarium and their toxins: Mycology, occurrence, toxicity, control and economic impact. Animal Feed Science and Technology*, 137, 3–4: 342–362.
115. Knudsen IMB, Elmholt S, Hockenhull J, Jensen DF. 1995. Distribution of saprophytic fungi antagonistic to *Fusarium culmorum* in two differently cultivated field soils, with special emphasis on the genus *Fusarium*. *Biological agriculture and horticulture: an international journal*, 12, 1: 61–79.
116. Koch HJ, Pringas C, Maerlander B. 2006. Evaluation of environmental and management effects on *Fusarium* head blight infection and deoxynivalenol concentration in the grain of winter wheat. *European Journal of Agronomy*, 24, 4: 357–366.
117. Köpke U, Thiel B, Elmholt S. 2007. Strategies to reduce mycotoxin and fungal alkaloid contamination in organic and conventional cereal production systems.

- Cooper J, Niggli U, Leifert C (edit.). Handbook of organic food safety and quality. Boca Raton (FL): CRC Press: 353–391.
118. Kristensen EF, Elmholt S, Thrane U. 2005. High-temperature Treatment for Efficient Drying of Bread Rye and Reduction of Fungal Contaminants. *Biosystems Engineering*, 92, 2: 183–195.
119. Kuiper-Goodman T, Scott PM, Watanabe H. 1987. Risk assessment of the mycotoxin zearalenone. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 7: 253–306.
120. Kuiper-Goodman T. 1999. Approaches to the risk analysis of mycotoxins in the food supply. *Food, nutrition and agriculture*, 23: 10-16.
121. Kushiro M. 2008. Effects of Milling and Cooking Processes on the Deoxynivalenol Content in Wheat. *International journal of molecular sciences*, 9, 11: 2127–2145.
122. Kwon O-K, Hong S-M, Choi D, Lee J-S, Song Y-C, Ha U-G, Yang SJ. 2004. Diminution Effect on Mycotoxin Content by Different Processing Methods in Barley and Wheat Infected with *Fusarium graminearum*. *New directions for a diverse planet: Proceedings of the 4th International Crop Science Congress Brisbane, Australia*, 26. Sep.–1. Oct. 2004.
123. Lancova K, Hajslova J, Kostelanska M, Kohoutkova J, Nedelnik J, Moravcova H, Vanova M. 2008. Fate of trichothecene mycotoxins during the processing: Milling and baking. *Food additives and contaminants*, 25, 5: 650–659.
124. Larsen JC, Hunt J, Perrin I, Ruckebauer P. 2004. Workshop on trichothecenes with a focus on DON: summary report. *Toxicology Letters*, 153: 1–22.
125. Lauren DR, Smith WA. 2001. Stability of the *Fusarium* mycotoxins nivalenol, deoxynivalenol and zearalenon in ground maize under typical cooking environments. *Food Additives and Contaminants*, 18: 1011–1016.

126. Leblanc JC, Malmauret L, Delobel D, Verger P. 2002. Simulation of the exposure to deoxynivalenol of French consumers of organic and conventional foodstuffs. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 36: 149–154.
127. Lee U, Jang H, Tanaka T, Oh Y, Cho C, Ueno Y. 1987. Effect of milling on decontamination of *Fusarium* mycotoxins nivalenol, deoxynivalenol, and zearalenone in Korean wheat. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 35, 1: 126–129.
128. Lewis L, Onsongo M, Njapau H, Schurz-Rogers H, Lubber G, Kieszak S, Nyamongo J, Backer L, Mohamud Dahiye A, Misore A, DeCock K, Rubin C, Kenya Aflatoxicosis Investigation Group. 2005. Aflatoxin Contamination of Commercial Maize Products during an Outbreak of Acute Aflatoxicosis in Eastern and Central Kenya. *Environmental Health Perspectives*, 113, 12: 1763–1767.
129. Lugauskas A, Raila A, Railiene M, Raudoniene V. 2006. Toxic micromycetes in grain raw material during its processing. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 13: 147–161.
130. Luz WCD, Stockwell CA, Bergstrom GC. 2003. Biological control of *Fusarium graminearum*. *Fusarium head blight of wheat and barley*: 381–394.
131. Mäder P, Hahn D, Dubois D, Gunst L, Alföldi T, Bermann H, Oehme M, Amado R, Schneider H, Graf U. 2007. Wheat quality in organic and conventional farming: results of a 21 year field experiment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87: 1826–1835.
132. Magan N, Hope R, Cairns V, Aldred D. 2003. Post-harvest fungal ecology: Impact of fungal growth and mycotoxin accumulation and stored grain. *European Journal of Plant Pathology*, 109, 7: 723–730.

133. Magan N, Medina A, Aldred D. 2011. Possible climate-change effects on mycotoxin contamination of food crops pre- and postharvest. *Plant Pathology*, 60, 1: 150–163.
134. Magdos F, Arvaniti F, Zampelas A. 2006. Organic food: Buying more safety or just peace of mind? A critical review of the literature. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 46, 1: 23–56.
135. Malmauret L, Parent-Massin D, Hardy J-L, Venger P. 2002. Contaminants in organic and conventional foodstuffs in France. *Food Additives and Contaminants*, 19, 6: 524–532.
136. Malone BM, Richard JL, Romer AS, Johnsson AS, Whitaker T. 1998. Fumonisin reduction in corn by cleaning during storage discharge. V: O'Brien L, Blakeney AB, Ross AS, Wrigley CW. 1998. Proceedings of the 48th Australian Cereal Chemistry Conference Royal Australian Chemical Institute. *Cereals 98*, North Melbourne, Australia: 372–379.
137. Marin S, Magan N, Belli N, Ramos AJ, Canela R, Sanchis V. 1999. Two-dimensional profile of fumonisin B1 production by *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* in relation to environmental factors and potential for modelling toxin formation in maize grain. *International Journal of Food Microbiology*, 51, 2-3: 159–167.
138. Martin RA, MacLeod JA, Caldwell C. 1991. Influences of production inputs on incidence of infection by *Fusarium* species on cereal seed. *Plant Disease*, 75, 8: 784–788.
139. Marx H, Gedek B, Kollarczik B. 1995. Vergleichende Untersuchungen zum mykotoxikologischen Status von ökologisch und konventionell angebautem Getreide. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, 201: 83–86.

140. Meister U, Springer M. 2004. Mycotoxins in cereals and cereal products—occurrence and changes during processing. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 78, 3: 168–173.
141. Mesterházy A, Bartok T. 1997. Effect of chemical control on FHB and toxic contamination of wheat. *Proceedings of the Fifth European Fusarium Seminar. Cereal Research Communications*, 25, 3/2: 781–783.
142. Mesterházy A. 2002. Role of deoxynivalenol in aggressiveness of *Fusarium graminearum* and *F. culmorum* and in resistance to *Fusarium* head blight. *European Journal of Plant Pathology*, 108: 675–684.
143. Mesterházy A. 2003. Breeding wheat for *Fusarium* head blight resistance in Europe. V: Leonard KJ, Bushnell WR. (edit.). 2003. *Fusarium Head Blight of Wheat and Barley*. St. Paul: The American Phytopathological Society: 211–240.
144. Mesterházy A, Bartok T, Lamper C. (2003). Influence of wheat cultivar, species of *Fusarium*, and isolate aggressiveness on the efficacy of fungicides for control of *Fusarium* head blight. *Plant Disease*, 87: 1107–1115.
145. Mesterházy ATB, Mirocha CG, Komoroczy R. 1999. Nature of wheat resistance to *Fusarium* head blight and the role of deoxynivalenol for breeding. *Plant breeding*, 118: 97–110.
146. Mesterházy ATB. 1987. Selection of head blight resistant wheat through improved seedling resistance. *Plant breeding*, 98: 31–36.
147. Miller JD, Young JC, Sampson DR. 1985. Deoxynivalenol and *Fusarium* head blight resistance in spring cereals. *Journal of Phytopathology*, 113, 4: 359–367.
148. Ministrstvo za kmetijstvo in okolje. 2012. Analiza stanja ekološkega kmetijstva. /Elektronski vir/

http://www.mko.gov.si/si/delovna_podrocja/kmetijstvo/ekolosko_kmetovanje/analiza_stanja_ekoloskega_kmetovanja/ (14. 11. 2012)

149. Molnar O, Schatzmayr G, Fuchs E, Prillinger H. 2004. *Trichosporon mycotoxinivorans* sp. nov., a new yeast species useful in biological detoxification of various mycotoxins. *Systematic and Applied Microbiology*, 27, 6: 661–671.
150. Munkvold GP, Desjardins AE. 1997. Fumonisin in maize – Can we reduce their occurrence? *Plant Disease*, 81: 556–565.
151. Munkvold GP, Hellmich RL, Rice LG. 1999. Comparison of fumonisin concentrations in kernels of transgenic Bt maize hybrids and non-transgenic hybrids. *Plant disease*, 83, 2: 130–138.
152. Munkvold GP. 2003. Cultural and genetic approaches to managing mycotoxins in maize. *Annual Review of Phytopathology*, 41: 99–116.
153. Muri SD, Voet H, Boon EP, Klaveren DJ, Brüsweiler JB. 2009. Comparison of human health risks resulting from exposure to fungicides and mycotoxins via food. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 2963–2974.
154. Murphy PA, Hendrich S, Landgren C, Bryant CM. 2006. Food Mycotoxins: An Update. *Journal of Food Science*, 71, 5: 51–65.
155. Naresh M, Aldred D. 2007. Post-harvest control strategies: Minimizing mycotoxins in the food chain. *International Journal of Food Microbiology*, 119, 1–2: 131–139.
156. Neira MS, Pacin AM, Martínez EJ, Moltó G, Resnik SL. 1997. The effect of bakery processing on natural deoxynivalenol contamination. *International Journal of Food Microbiology*, 37: 21–25.

157. Nirenberg HI. 1976. Untersuchungen über die morphologische und biologische Differenzierung in der *Fusarium*-Sektion *Liseola*. Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem, 169: 1–117.
158. Nishio Z, Takata K, Ito M, Tabiki T, Yamauchi H. 2004. Relationship between physical dough properties and the improvement of breadmaking quality during flour aging. *Food Science and Technology Research*, 10: 208–213.
159. Nowicki TW, Gaba DG, Dexter JE, Matsuo RR, Clear RM. 1988. Retention of the *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol in wheat during processing and cooking of spaghetti and noodles. *Journal of Cereal Science*, 8, 2: 189–202.
160. Obst A, Lepschy-von Gleissenthall J, Beck R. 1997. On the etiology of *Fusarium* head blight of wheat in South Germany-preceding crops, weather conditions for inoculum production and head infection, proneness of the crop to infection and mycotoxin production. *Cereal Research Communications*, 25: 699–703.
161. Ok HE, Kim HJ, Cho TY, Oh KS, Chun HS. 2009. Determination of deoxynivalenol in cereal-based foods and estimation of dietary exposure. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 72: 1424–1430.
162. Oldenburg E, Bramm A, Valenta H. 2007. Influence of nitrogen fertilization on deoxynivalenol contamination of winter wheat – experimental field trials and evaluation of analytical methods. *Mycotoxin Research*, 23, 1: 7–12.
163. Ono EY, Sasaki EY, Hashimoto EH, Hara LN, Correa B, Itano EN, Sugiura T., Ueno Y, Hirooka EY. 2002. Post-harvest storage of corn: effect of beginning moisture content on mycoflora and fumonisin contamination. *Food additives and contaminants*, 19, 11: 1081–1090.
164. Ortolan F, Hecktheuer LH, De Miranda MZ. 2010. Effect of storage at low temperature (-4 degrees C) in the color and acidity content of wheat flour. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, 30, 1: 55–59.

165. Osborne LE, Stein JM. 2007. Epidemiology of *Fusarium* head blight on small-grain cereals. *International Journal of Food Microbiology*, 119, 1–2: 103–108.
166. Pacin A, Ciancio-Bovier E, Cano G, Taglieri D, Hernandez-Pezzani C. 2010. Effect of the bread making process on wheat flour contaminated by deoxynivalenol and exposure estimate. *Food Control*, 21: 492–495.
167. Pacin AM, Resnik SL, Neira MS, Moltó G, Martínez E. 1997. Natural occurrence of deoxynivalenol in wheat, wheat flour and bakery products in Argentina. *Food Additives and Contaminants*, 14: 327–331.
168. Palpacelli V, Beco L, Ciani M. 2007. Vomitoxin and zearalenone content of soft wheat flour milled by different methods. *Journal of Food Protection*, 70, 2: 509–513.
169. Pancaldi D, Pisi A, Alberti I, Romani S. 2004. Control of *Fusarium* head blight and accumulation of deoxynivalenol in durum wheat grain, semolina and bran. *Phytopathologia Mediterranea*, 43, 3: 351–359.
170. Parry DW, Jenkinson P, Mcleod L. 1995. *Fusarium* ear blight (scab) in small-grain cereals-a review. *Plant pathology*, 44, 2, 207–238.
171. Paul PA, Lipps PE, Madden LV. 2005. Relationship between visual estimates of *Fusarium* head blight intensity and deoxynivalenol accumulation in harvested wheat grain: a meta-analysis. *Phytopathology*, 95: 1225–1236.
172. Perkowski J, Kaczmarek Z. 2002. Distribution of deoxynivalenol and 3-acetyldeoxynivalenol in naturally contaminated and *Fusarium culmorum* infected triticale samples. *Nahrung / Food*, 46, 6: 415–419.
173. Perkowski J. 1998. Distribution of deoxynivalenol in barley kernels infected by *Fusarium*. *Nahrung*, 42, 2: 81–83.
174. Pirgozliev SR, Edwards SG, Hare MC, Jenkinson P. 2002. Effect of dose rate of azoxystrobin and metconazole on the development of *Fusarium* head blight

- and the accumulation of deoxynivalenol (DON) in wheat grain. *European journal of plant pathology*, 108, 5: 469–478.
175. Poapolathep A, Poapolathep S, Klangkaew N, Sugita-Konishi Y, Kumagai S. 2008. Detection of deoxynivalenol contamination in wheat products in Thailand. *Journal of Food Protection*, 71: 1931–1933.
176. Pohland AE, Nesheim S, Friedman L. 1992. Ochratoxin A: A review. *Pure and Applied Chemistry*, 64: 1029–1048.
177. Prandini A, Sigolo S, Filippi L, Battilani P, Piva G. 2009. Review of predictive models for *Fusarium* head blight and related mycotoxin contamination in wheat. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 5: 927–931.
178. Prange A, Birzele B, Krämer J, Meier A, Modrow H, Köhler P. 2005. *Fusarium*-inoculated wheat: deoxynivalenol contents and baking quality in relation to infection time. *Food Control*, 16, 8: 739–745.
179. Pravilnik o ekološki pridelavi in predelavi kmetijskih pridelkov oziroma živil. 2010. Ur. list RS, št. 71: 3848; popravek 94/2010: 4986.
180. Pronyk C, Cenkowski S, Abramson D. 2006. Superheated steam reduction of deoxynivalenol in naturally contaminated wheat kernels. *Food Control*, 17, 10: 789–796.
181. Ragab WSM, Drusch S, Schnieder F, Beyer M. 2007. Fate of deoxynivalenol in contaminated wheat grain during preparation of Egyptian 'balila'. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 58, 3: 169–177.
182. Railiene M, Raila A, Zvicevičius E, Steponavičiene A, Lugauskas A, Levinskaite L, Raudoniene V. 2005. Evaluation of the impact of grain processing technology upon distribution of toxic mycromycetes. *Botanica Lithuanica*, 7: 105–113.

183. Richard JL. 2007. Some major mycotoxins and their mycotoxicoses – an overview. *International Journal of Food Microbiology*, 119, 1–2: 3–10.
184. Rios G, Zakhia-Rozis N, Chaurand M, Richard-Forget F, Samson MF, Abecassis J, Lullien-Pellerin V. 2009. Impact of durum wheat milling on deoxynivalenol distribution in the outcoming fractions. *Food Additives and Contaminants*, 26, 4: 487–495.
185. Robbins CA, Swenson LJ, Nealley ML, Gots RE, Kelman BJ. 2000. Health effects of mycotoxins in indoor air: a critical review. *Applied Occupational and Environmental Hygiene*, 15, 10: 773–84.
186. Romer. 2012. Mycotoxins. /Elektronski vir/
<http://www.romerlabs.com/en/analytes/mycotoxins.html> (3. 12. 2012)
187. Roming IF, Avram M. 2010. Deoxynivalenol stability during wheat processing. *Romanian Biotechnological Letters*, 15, 3: 47–50.
188. Roscoe V, Lombaert GA, Huzel V, Neumann G, Melietio J, Kitchen D, Kotello S, Krakalovich T, Trelka R, Scott PM. 2008. Mycotoxins in breakfast cereals from the Canadian retail market: A 3-year survey. *Food Additives and Contaminants*, 25: 347–355.
189. Rose DJ, Ogden LV, Dunn ML, Pike O. 2008. Enhanced lipid stability in whole wheat flour by lipase inactivation and antioxidant retention. *AACC International Cereal Chemistry*, 85: 218–223.
190. Rossi F, Bertuzzi T, Comizzoli S, Turconi G, Roggi C, Pagani M, Cravedi P, Pietri A. 2006. Preliminary survey on composition and quality of conventional and organic wheat. *Italian Journal of Food Science*, 4, 8: 355–366.
191. Rotter BA, Prelusky DB, Pestka JJ. 1996. Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 48: 1–34.

192. Paterson Russell RM, Lima N. 2010. How will Climate Change Affect mycotoxins in food? *Food Research International*, 43, 7: 1902–1914.
193. Salman H, Copeland L. 2007. Effect of storage on Fat Acidity and Pasting Characteristics of Wheat flour. *Cereal chemistry*, 84, 6: 600–606.
194. Samar M, Resnik SL, Gonzalez HHL, Pacin AM, Castillo MD. 2007. Deoxynivalenol reduction during the frying process of turnover pie covers. *Food Control*, 18, 10: 1295–1299.
195. Samar MM, Ferro-Fontan C, Resnik SL, Pacin AM, Castillo MD. 2003. Distribution of deoxynivalenol in wheat, wheat flour, bran, and gluten and variability associated with the test procedure. *Journal of AOAC international*, 86: 551–556.
196. Samar M, Neira MS, Resnik SL, Pacin A. 2001. Effect of fermentation on naturally occurring DON in Argentinean bread processing technology. *Food Additives & Contaminants*, 18, 11: 1004–1010.
197. Sanchis V, Magan N. 2004. Environmental conditions affecting mycotoxins. V: Magan N, Olsen M. (Eds.). *Mycotoxins in food: Detection and control*. Boca Raton, FL: CRC Press: 174–189.
198. Saunders DS, Meredith FI, Voss KA. 2001. Control of fumonisin: effect of processing. *Environ. Health Perspectives*, 109, 2: 333–336.
199. Schaafsma AW, Hooker DC, Baute TS, Tambutric-Ilicic L. 2002. Effect of Bt-corn hybrids on deoxynivalenol content in grain at harvest. *Plant disease*, 86, 10: 1123–1126.
200. Schaafsma AW, Hooker DC. 2007. Climatic models to predict occurrence of *Fusarium* toxins and wheat and maize. *International Journal of Food Microbiology*, 119, 1–2: 116–125.

201. Schaafsma AW, Tamburic-Ilinic L, Miller JD, Hooker DC. 2001. Agronomic considerations for reducing deoxynivalenol in wheat grain. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 23: 279–285.
202. Schmidt W, Nitzsche O. 2004. Reducing *Fusarium* risk in maize rotations: rotating tillage and cultivar choice. *Mais*, 32, 11: 8–11.
203. Schmolke M, Zimmermann G, Schweizer G, Miedaner T, Korzun V, Ebmeyer E, Hartl L. 2008. Molecular mapping of quantitative trait loci for field resistance to *Fusarium* head blight in a European winter wheat population. *Plant Breeding*, 127, 5: 459–464.
204. Schoental R. 1984. Mycotoxins and the Bible. *Perspectives in Biology and Medicine*, 28, 1: 117-20.
205. Schollenberger M, Drochner W, Rühle M, Jara HT, Müller HM. 2005. Trichothecene toxins in different groups of conventional and organic bread of the German market. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18: 69–78.
206. Schollenberger M, Jara HT, Suchy S, Drochner W, Müller HM. 2002. *Fusarium* toxins in wheat flour collected in an area in southwest Germany. *International Journal of Food Microbiology*, 72: 85–89.
207. Schollenberger M, Suchy S, Jara TH, Drochner W, Müller HM. 1999. A survey of *Fusarium* toxins in cereal-based foods marketed in an area of southwest Germany. *Mycopathologia*, 147, 1: 49–57.
208. Schroeder HW, Christenson JJ. 1963. Factors affecting resistance of wheat to scab caused by *Gibberella zea*. *Phytopathology*, 52: 831–838.
209. Scientific Committee on Food. 2003. Updated opinion of the Scientific Committee on Food on Fumonisin B1, B2 and B3. /Elektronski vir/
http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out185_en.pdf (29. 10. 2010)

210. Scott P, Kanhere SR, Lau PY, Dexter JE. 1983. Effects of experimental flour milling and bread baking on retention of deoxynivalenol (vomitoxin) in hard red spring wheat. *Cereal Chemistry*, 60: 421–424.
211. Scott PM, Kanhere SR, Dexter JE, Brennan PW, Trenhom HL. 1984. Distribution of the trichothecene mycotoxin Deoxynivalenol (Vomitoxin) during the milling of naturally contaminated durum spring wheat and its fate in baked products. *Food Additives & Contaminants*, 1: 313–322.
212. Seitz LM, Eustace WD, Mohr HE, Shogren MD, Yamazaki VT. 1986. Cleaning, milling, and baking tests with durum winter wheat containing deoxynivalenol. *Cereal Chemistry*, 63, 2: 146–150.
213. Seitz LM, Yamazaki WT, Clements RL, Mohr HE, Andrews L. 1985. Distribution of deoxynivalenol in soft wheat mill streams. *Cereal Chemistry*, 62, 6: 467–469.
214. Singh RP, Ma H, Rajaram S. 1995. Genetic analysis of resistance to scab in spring wheat cultivar Frontana. *Plant Disease*, 79, 3: 238–240.
215. Sinha RC, Savard ME. 1997: Concentration of deoxynivalenol in single kernels and various tissues of wheat heads. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 19: 8–12.
216. Snijders CHA, Krechting CF. 1992. Inhibition of deoxynivalenol translocation in *Fusarium* head blight resistant wheat. *Canadian Journal of Botany*, 70: 1570–1576.
217. Snijders CHA. 1990a. Diallel analysis of resistance to head blight caused by *Fusarium culmorum* in winter wheat. *Euphytica*, 50, 2: 1–9.
218. Snijders CHA. 1990b. Genetic variation for resistance to *Fusarium* head blight in bread wheat. *Euphytica*, 50, 2: 171–179.

219. Snijders CHA. 1990c. Response to selection in F2 generations of winter wheat for resistance to head blight caused by *Fusarium culmorum*. *Euphytica*, 50, 2: 163–169.
220. Snijders CHA. 2004. Resistance in wheat to *Fusarium* infection and trichothecene formation. *Toxicology Letters*, 153, 1: 37–46.
221. Steinkellner S, Langer I. 2004. Impact of tillage on the incidence of *Fusarium* spp. in soil. *Plant Soil*, 267, 1–2: 13–22.
222. Steyn SP. 1995. Mycotoxins, general view, chemistry and structure. *Toxicology Letters*, 82/83: 843–851.
223. 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, 7: 1764–1768.
224. Sur R, Nagi HPS, Sharma S, Sekhon KS. 1993. Storage changes in the quality of sound and sprouted flour. *Plant Foods for Human Nutrition*, 44: 35–44.
225. Sutton JC. 1982. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 4: 195–209.
226. Suty A, Mauler-Machnik A, Courbon R. 1996. New findings on the epidemiology of *Fusarium* ear blight on wheat and its control with tebuconazol. *Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference: pests and diseases*, British Crop Protection Council, Farnham 5b-3: 511–516.
227. Tanaka H, Sugita-Konishi Y, Takino M, Tanaka T, Toriba A, Hayakawa K. 2010. A survey of the occurrence of *Fusarium* mycotoxins in biscuits in Japan by using LC/MS. *Journal of Health Science*, 56: 188–194.
228. Tassou CC, Natskoulis PI, Panagou EZ, Spiropoulos AE, Magan N. 2007. Impact of water activity and temperature on growth and ochratoxin A

- production of two *Aspergillus carbonarius* isolates from wine grapes in Greece. *Journal of Food Protection*, 70, 12: 2884–2888.
229. Teich AH. 1987. Less wheat scab with urea than with ammonium nitrate fertilisers. *Cereal Research Community*, 15: 35–38.
230. Thammawong M, Okabe M, Kawasaki T, Nakagawa H, Nagashima H, Okadome H, Nakajima T, Kushiro M. 2010. Distribution of Deoxynivalenol and Nivalenol in Milling Fractions from *Fusarium*-Infected Japanese Wheat Cultivars. *Journal of Food Protection*, 73: 1817–1823.
231. Thammawong M, Okadome H, Shiina T, Nakagawa H, Nagashima H, Nakajima T, Kushiro M. 2011. Distinct Distribution of Deoxynivalenol, Nivalenol, and Ergosterol in *Fusarium*-infected Japanese Soft Red Winter Wheat Milling Fractions. *Mycopathologia*, 172: 323–330.
232. Tkachuk R, Dexter JE, Tipples KH, Nowicki TW. 1991. Removal by specific gravity table of tombstone kernels and associated trichothecene from wheat infected with *Fusarium* head blight. *Cereal Chemistry*, 68, 4: 428–431.
233. Tocris bioscience. Deoxynivalenol. /Elektronski vir/
<http://www.tocris.com/dispprod.php?ItemId=268763> (9. 4. 2010)
234. Tomohiro B, Kazuhiro S. 2000. Genetic analysis of resistance to *Fusarium* head blight caused by *Fusarium graminearum* in Chinese wheat cultivar Sumai 3 and the Japanese cultivar Saikai 165. *Euphytica*, 113, 2: 87–99.
235. Trigo-Stockli DM, Deyoe CW, Satumbaga RF, Pedersen JR. 1996. Distribution of Deoxynivalenol and Zearalenon in Milled Fractions of Wheat. *Cereal Chemistry*, 73, 3: 388–391.
236. Trucksess MW, Bao L, Weaver CM, White KD. 2010. Determination of deoxynivalenol in processed foods. *Journal of AOAC international*, 93: 1236–1242.

237. Tubiello NF, Donatelli M, Rosenzweig C, Stockle OC. 2000. Effects of climate change and elevated CO₂ on cropping system: model prediction at two Italian locations. *European Journal of Agronomy*, 13, 2–3: 179–189.
238. Ueno J. 1980. Trichothecene mycotoxins: Mycology, chemistry, and toxicology. V: Committee on Protection Against Mycotoxins, Board on Toxicology and Environmental Health Hazards, Commission on Life Sciences, National Research Council. 1983. Protection Against Trichothecene Mycotoxins. Washington, National Academy Press: 17–42.
239. Uredba Komisije (ES) št. 889/2008 z dne 5. septembra 2008 o določitvi podrobnih pravil za izvajanje Uredbe Sveta (ES) št. 834/2007 o ekološki pridelavi in označevanju ekoloških proizvodov glede ekološke pridelave, označevanja in nadzora. 2008. Uradni list Evropske unije, 250.
240. Uredba Sveta (ES) št. 834/2007 z dne 28. junija 2007 o ekološki pridelavi in označevanju ekoloških proizvodov in razveljavitvi Uredbe (EGS) št. 2092/91. 2007. Uradni list Evropske unije, 189.
241. Usleber E, Lepschy J, Märtlbauer E, 2000. Deoxynivalenol in Mehlproben des Jahres 1999 aus dem Einzelhandel. *Mycotoxin Research*, 16A: 30– 33.
242. Vanova M, Klem K, Misa P, Matusinsky P, Hajslova J, Lancova K. 2008. The content of Fusarium mycotoxins, grain yield and quality of winter wheat cultivars underorganic and convetional cropping systems. *Plant Soil Environment*, 54, 9: 395–402.
243. Varga J, Toth B. 2005. Novel strategies to control mycotoxins in feeds: a review. *Acta veterinaria Hungarica*, 53, 2: 189–203.
244. Vendl O, Crews C, MacDonald S, Krska R, Berthiller F. 2010. Occurrence of free and conjugated Fusarium mycotoxins in cereal-based food. *Food Additives and Contaminants*, 27: 1148–1152.

245. Visconti A, Haidukowski EM, Pascale M, Silvestri M. 2004. Reduction of deoxynivalenol during durum wheat processing and spaghetti cooking. *Toxicology Letters*, 153, 1: 181–189.
246. Voss KA, Poling SM, Meredith FI, Bacon CW, Saunders DS. 2001. Fate of fumonisins during the production of fried tortilla chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 6: 3120–3126.
247. Wagacha JM, Muthomi JW. 2006. *Fusarium culmorum*: Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat. *Crop Protection*, 26, 7: 877–885.
248. Wannop CC. 1961. The Histopathology of Turkey "X" Disease in Great Britain. *Avian Diseases*, 5, 4: 371–381.
249. Weidenborner M, Wieczorek C, Appel S, Kunz B. 2000. Whole wheat and white wheat flour – the mycobiota and potential mycotoxins. *Food Microbiology*, 17: 103–107.
250. Widstrom NW, Lamb MC, Williams RG. 2000. Economic input for an expert management system to minimize risk of aflatoxin contamination of maize. *Proc. USDA-ARS Aflatoxin/Fumonisin Workshop, Fish Camp, CA, 25–27 October*: 64.
251. Wilson SC, Brasel TL, Carriker CG, Fortenberry GD, Fogle MR, Martin JM, Wu C, Andriychuk LA, Karunasena E, Straus DC. 2004. An investigation into techniques for cleaning mould-contaminated home contents. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 1, 7: 442–447.
252. Wo F. 2004. Mycotoxin Risk Assessment for the Purpose of Setting International Regulatory Standards. *Environmental Science & Technology*, 38, 15: 4049–4055.

253. Wolf-Hall C, Hanna M, Bullerman L. 1999. Stability of deoxynivalenol in heat-treated foods. *Journal of Food Protection*, 62: 962–964.
254. Yang ZP. 1994. Breeding for resistance to *Fusarium* head blight of wheat in the mid-to lower Yangtze River Valley of China. *Wheat Special Report Number 27*, 27: 16.
255. Yang ZP, Gilbert J, Somers DJ, Fedak G, Procnier JD, McKenzie IH. 2003. Marker Assisted Selection of *Fusarium* Head Blight Resistance Genes in Two Doubled Haploid Populations of Wheat. *Molecular Breeding*, 12, 4: 309–317.
256. Young JC, Fulcher RG, Hayhoe JH, Scott PM, Dexter JE. 1984. Effect of Milling and Baking on Deoxynivalenol (Vomitoxin) Content of Eastern Canadian Wheats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32: 695–664.
257. Yuen YG, Schoneweis DS. 2007. Strategies for managing *Fusarium* head blight and deoxynivalenol accumulation in wheat. *International Journal of Food Microbiology*, 119, 1–2: 126–130.
258. Yumbe-Guevara BE, Imoto T, Yoshizawa T. 2003. Effects of heating procedures on deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone levels in naturally contaminated barley and wheat. *Food Additives and Contaminants*, 20: 1132–1140.
259. Zinedine A, Soriano JS, 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: 1–18.
260. Zink DL. 1997. The impact of consumer demands and trends on food processing. *Emerging Infectious Diseases*, 3: 467–469.

ZAHVALA

Za vso podporo, usmerjanje, svetovanje in pomoč pri poskusih, pisanju člankov ter nastajanju doktorske disertacije bi se rad zahvalil mentorju, dr. Mariu Lešniku, ter celotni Katedri za fitomedicino. Brez njihove pomoči nastanek tega dela ne bi bil mogoč. Še enkrat hvala za vso pomoč.

Zahvaljujem se tudi Kmetijskemu inštitutu Slovenije, ki nam je omogočil izvedbo poskusov na njihovih površinah, nudil v uporabo stroje za čiščenje in frakcioniranje zrnja ter prispeval poskusni kombajn za žetev mikroposkusov. Posebna zahvala je namenjena tudi za zagotavljanje dela finančnih sredstev za izvedbo laboratorijskih analiz vsebnosti DON in NIV.

Iskrena hvala prijateljem, ki ste mi pomagali pri poskusih. Hvala Branku Lukaču, Simonu Valentanu in Danielu Gruškovnjaku za vse ure, preživete v Ljubljani in Mariboru, ter za pomoč, ki ste mi jo nudili.

Nenazadnje se za vso podporo in razumevanje zahvaljujem mojemu dekletu Leonidi Ivanuša ter članom družine, ki so morali zaradi moje odsotnosti marsikaj postoriti brez mene.

Posebna zahvala gre Inštitutu za ekološki inženiring in njihovemu direktorju g. Željku Blažeki, ki mi je z zaposlitvijo omogočil nemoteno zaključevanje doktorske disertacije.

Vsem, ki jih tukaj nisem poimensko naštel in ste mi s svojo pomočjo pomagali pri nastajanju doktorske disertacije, bi se rad iskreno zahvalil in obenem opravičil, ker vas nisem poimensko navedel.

PRILOGE

PRILOGA 1

Osebna bibliografija za obdobje 2008–2012

ALEŠ KOLMANIČ [34256]

ČLANKI IN DRUGI SESTAVNI DELI

1.01 Izvirni znanstveni članek

1. KOLMANIČ, Aleš, SIMONČIČ, Andrej, VAJS, Stanislav, CENCIČ, Avrelija, LEŠNIK, Mario. Fate of deoxynivalenol and nivalenol during storage of organic whole-grain wheat flour. *J. Stored Prod. Res.* [Print ed.], 2010, letn. 46, št. 1, str. 66–71. [COBISS.SI-ID [2905900](#)]

1.04 Strokovni članek

2. KOLMANIČ, Aleš. Ekološko kmetijstvo in trenutno stanje v Sloveniji = Organic farming and current situation in Slovenia. *Ekolist*, dec. 2012, 08, str. 32-36. <http://www.ekolist.si>. [COBISS.SI-ID [72709889](#)]

3. KOLMANIČ, Aleš, LEŠNIK, Mario. Aflatoksini v krmi goveda in pojav v mleku. *Kmetovalec*, 2012, letn. 80, št. 3, str. 13–17. [COBISS.SI-ID [3283500](#)]

4. VAJS, Stanislav, KOLMANIČ, Aleš. Pristopi pri zatiranju fuzarioz žit. *Panonska polja*, 2010, št. 6, str. 7–10. [COBISS.SI-ID [2925100](#)]

1.25 Drugi sestavni deli

5. KOLMANIČ, Aleš. Zatiranje repne grizlice (*Athalia rosae*) v oljni ogrščici. V: *Kmetijsko gozdarski zavod Maribor*. Maribor: Kmetijsko gozdarski zavod, [2005-], [1] f. www.kmetzav-mb.si/Repnagrizlica.doc. [COBISS.SI-ID [3264812](#)]

6. KOLMANIČ, Aleš. Prekomeren razvoj ranih setev oljne ogrščice. V: *Kmetijsko gozdarski zavod Maribor*. Maribor: Kmetijsko gozdarski zavod, [2005-], [2] f. www.kmetzav-mb.si/Oljnaopremocnarast.doc. [COBISS.SI-ID [3264556](#)]

7. KOLMANIČ, Aleš, ZADRAVEC, Draga. Rezultati poskusov hibridov koruze v letu 2011. V: *Kmetijsko gozdarski zavod Maribor*. Maribor: Kmetijsko gozdarski zavod, [2005-], [3] f. www.kmetijski-zavod.si/docs/KGZSnovica774.doc. [COBISS.SI-ID [3265580](#)]
8. KOLMANIČ, Aleš. Dvoredni ali večredni ječmen? Katero varieteto izbrati?. V: *Kmetijsko gozdarski zavod Maribor*. Maribor: Kmetijsko gozdarski zavod, [2005-], [4] f. www.kmetijski-zavod.si/docs/KGZSnovica748.doc. [COBISS.SI-ID [3265068](#)]
9. KOLMANIČ, Aleš. Priporočila o jesenskem zatiranju plevelov v žitih. V: *Kmetijsko gozdarski zavod Maribor*. Maribor: Kmetijsko gozdarski zavod, [2005-], [4] f. www.kmetzav-mb.si/Jesenskiherbicidizita2011.doc. [COBISS.SI-ID [3265324](#)]
-

MONOGRAFIJE IN DRUGA ZAKLJUČENA DELA

2.14 Projektna dokumentacija (idejni projekt, izvedbeni projekt)

10. KOLMANIČ, Aleš. Strategija občine Apače za koncipiranje trajnostnega razvoja - razvoj kmetijstva : analiza obstoječega stanja kmetijstva : pregled interakcije kmetijstvo-vode-onesnaževanje : izdelava smernic. Maribor: Institut za ekološki inženiring d.o.o., 2012. 62 f., graf. prikazi. [COBISS.SI-ID 72858113]
-

IZVEDENA DELA (DOGODKI)

3.25 Druga izvedena dela

11. KOLMANIČ, Aleš, MUM, Boris. *Pomen čebel v kmetijski pridelavi in ukrepi za njihovo varovanje : [strokovno predavanje za kmetovalce za ukrep KOP, Maribor, 14. 12. 2011]*. Maribor, 2011. [COBISS.SI-ID [3261740](#)]
12. KOLMANIČ, Aleš, MUM, Boris. *Pomen čebel v kmetijski pridelavi in ukrepi za njihovo varovanje : [strokovno predavanje za kmetovalce za ukrep KOP, Ptuj, 20. 12. 2011]*. Ptuj, 2011. [COBISS.SI-ID [3262252](#)]
13. KOLMANIČ, Aleš, MUM, Boris. *Pomen čebel v kmetijski pridelavi in ukrepi za njihovo varovanje : [strokovno predavanje za kmetovalce za ukrep KOP, Slovenska Bistrica, 25. 11. 2011]*. Slovenska Bistrica, 2011. [COBISS.SI-ID [3261996](#)]
-

NERAZPOREJENO

14. KOLMANIČ, Aleš. *Vpliv formulacije herbicidov na podlagi glifosata na učinkovitost delovanja na njivski slak (Convolvulus arvensis L.) : diplomsko delo*, (Diplomska dela študentov Fakultete za kmetijstvo Univerze v Mariboru, Univerzitetne diplomske naloge). Maribor: [A. Kolmanič], 2008. V, 42 f., ilustr. <http://dkum.uni-mb.si/Dokument.php?id=7065>. [COBISS.SI-ID [2673708](http://dkum.uni-mb.si/Dokument.php?id=7065)]

PRILOGA 2

Življenjepis (kratka verzija)

Osebni podatki

Ime in priimek: Aleš Kolmanič
Datum in kraj rojstva: 23. 6. 1983 v Murski Soboti
Državljanstvo: slovensko

Izobrazba:

1990–1998: Osnovna šola Križevci pri Ljutomeru
1998–2002: Srednja kmetijska šola Rakičan
2002–2008: Fakulteta za kmetijstvo Maribor, dodiplomski študij
Kmetijstvo
2008–2012: Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede
Maribor, podiplomski doktorski študij III. stopnje
Kmetijstvo

Delovne izkušnje:

2008–2011: Kmetija Kolmanič, Sadjarstvo Šilec,
Agrosaat, d. o. o.
2011–2012: Kmetijsko gozdarski zavod Maribor
2012–: Institut za ekološki inženiring, Maribor

PRILOGA 3

UNIVERZA V MARIBORU Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede

Izjava doktorskega kandidata

Spodaj podpisani Aleš Kolmanič, vpisna številka 51054305, izjavljam, da je doktorska disertacija z naslovom **Obvladovanje pojava trihotecenskih mikotoksinov (deksinivalenol in nivalenol) v neindustrijski verigi pridelave in predelave krušnih žit:**

- rezultat lastnega raziskovalnega dela,
- da predložena disertacija v celoti ali v delih ni bila predložena za pridobitev kakršne koli izobrazbe po študijskem programu druge fakultete ali univerze,
- da so rezultati korektno navedeni,
- da nisem kršil avtorskih pravic in intelektualne lastnine drugih

Podpis doktorskega kandidata:

PRILOGA 4

UNIVERZA V MARIBORU Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede

Izjava kandidatovega mentorja o ustreznosti doktorske disertacije

Podpisani dr. Mario Lešnik, mentor doktorskemu kandidatu, izjavljam, da je doktorska disertacija z naslovom **Obvladovanje pojava trihotecenskih mikotoksinov (deoksinivalenol in nivalenol) v neindustrijski verigi pridelave in predelave krušnih žit**, ki jo je izdelal doktorski kandidat Aleš Kolmanič, v skladu z odobreno temo, pravilnikom o pripravi in zagovoru doktorske disertacije ter mojimi navodili in predstavlja izviren prispevek k razvoju znanstvene discipline.

Doktorsko delo je bilo opravljeno v okviru nekaterih raziskav, ki jih je izvajala Katedra za fitomedicino v okviru njenih projektnih raziskav in v sodelovanju s Kmetijskim inštitutom Slovenije. Doktorand je aktivno sodeloval v delu Katedre za fitomedicino. Posamezni segmenti raziskav doktorata so bili sestavni del drugih projektnih raziskav. Nekateri rezultati so bili objavljeni brez soavtorstva doktoranda. Doktorand se je glede tega strinjal.

Podpis mentorja:
Dr. Mario Lešnik

PRILOGA 5

UNIVERZA V MARIBORU
Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede

**IZJAVA O OBJAVI ELEKTRONSKE VERZIJE DOKTORSKE DISERTACIJE IN
OSEBNIH PODATKOV, VEZANIH NA ZAKLJUČEK ŠTUDIJA**

Ime in priimek avtorja: Aleš KOLMANIČ

Vpisna številka:51054305

Študijski program: FKBV DOKTORSKI ŠTUDIJ KMETIJSTVO

Naslov doktorske disertacije: Obvladovanje pojava trihotecenskih mikotoksinov
(deoksinivalenol in nivalenol) v neindustrijski verigi pridelave in predelave krušnih **žit**

Mentor: izr. prof. dr. Mario Lešnik

Podpisani Aleš KOLMANIČ soglašam z objavo doktorske disertacije v Digitalni knjižnici
Univerze v Mariboru.

Tiskana verzija doktorske disertacije je istovetna elektronski verziji, ki sem jo oddal v
Digitalno knjižnico Univerze v Mariboru.

Podpisani hkrati izjavljam, da dovoljujem objavo osebnih podatkov, vezanih na zaključek
študija (ime, priimek, leto in kraj rojstva, datum diplomiranja, naslov doktorske disertacije)
na spletnih straneh in v publikacijah Univerze v Mariboru.

Kraj in datum:

Podpis avtorja: