

Ivana Đuras

**Pojavnost plijesni na žitaricama u
vegetacijskom periodu i nakon žetve**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2022.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Mikrobiologija s parazitologijom Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za mikrobiologiju pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Maje Šegvić Klarić. Istraživanje je provedeno u sklopu projekta „Istraživanje utjecaja klimatskih promjena na razvoj plijesni, mikotoksina i kvalitetu žitarica s prijedlogom mjera“ (KK.05.1.1.02.0023), kojeg je sufinancirala Europska unija iz Europskog fonda za regionalni razvoj.

Zahvaljujem se svojoj mentorici, prof. dr. sc. Maji Šegvić Klarić na pruženoj pomoći tijekom izrade ovog rada. Veliko hvala mojoj obitelji koja me bodrila tijekom cijelog studiranja. Veliko hvala i mojim prijateljima bez kojih bi studentski dani bili besmisleni.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Klimatske promjene.....	1
1.2. Mikotoksini	1
1.2.1. <i>Fusarium</i>	3
1.2.2. <i>Penicillium</i>	3
1.2.3. <i>Aspergillus</i>	4
1.2. Utjecaj klimatskih promjena na mikotoksine	4
1.3. Klimatske promjene u Republici Hrvatskoj	6
2. OBRAZLOŽENJE TEME	7
3. MATERIJALI I METODE	8
3.1. OPIS UZORKOVANJA.....	8
3.2. STATISTIČKA OBRADA REZULTATA	8
4. REZULTATI I RASPRAVA	9
5. ZAKLJUČAK	25
6. LITERATURA	27
7. SAŽETAK/SUMMARY	30
Temeljna dokumentacijska kartica	32
Basic documentation card	33

1. UVOD

1.1. Klimatske promjene

Klimatske promjene mogu se javiti neovisno o djelovanju čovjeka, ali suvremen način života uvelike utječe njihovu pojavu. Prema Intergovernmental Panel of Climate Change (IPCC), porast temperatura je očekivan na globalnoj razini uz učestale valove vrućine te porast razine mora. World Meteorological Organisation (WMO) navodi da je period između 2011. i 2020. godine zabilježen kao najtoplije desetljeće otkad postoje mjerenja temperature. Porast temperatura je jedan od aspekata klimatskih promjena te je direktna posljedica rastućih koncentracija stakleničkih plinova poput ugljikova dioksida, metana i dušikovog oksida. Masovno otpuštanje navedenih plinova u atmosferu posljedica je ljudske djelatnosti, primarno kao posljedica procesa izgaranja fosilnih goriva, ali i zbog neprestane deforestacije. Klimatske promjene se manifestiraju i kroz sve češće pojave ekstremnih vremenskih nepogoda, otapanja polarnog leda, porasta razine mora i smanjenja zaliha pitke vode.

Svako područje obilježeno je karakterističnim klimatskim uvjetima. Pojava neuobičajenih uvjeta za neko područje može dovesti i do promjena u mikroorganizmima i njihovim produktima koji prirodno egzistiraju na tom području. Smatra se da se klimatske promjene najbolje manifestiraju kroz promjene u temperaturi i količini padalina (Inagam, 1999). Navedene promjene imaju velik utjecaj na biljni svijet, ali i na patogene tih biljaka. Promjenama uvjeta u kojima žive biljke, ali i njihovi patogeni, otvaraju se vrata za pojavu novih bolesti biljaka.

Govoreći konkretno o žitaricama, porast temperatura u određenim predjelima će dovesti do toga da su temperature previsoke za uzgoj određenih tipova žitarica te će se samim time uzgoj biti preseljen na neku drugu, povoljniju lokaciju. Isto tako, lokacije koje do sada možda nisu bile idealne za uzgoj žitarica zbog preniskih temperatura, porastom temperatura, postaju prihvatljivijom opcijom. Promjena uobičajenih lokacija za uzgoj žitarica potencijalan je izvor problema budući da su žitarice sada izložene novim patogenima, promjenama u mikroorganizmima koji žive na tim žitaricama te samim time i mogućoj pojavi novih bolesti žitarica (Perrone i sur., 2020).

1.2. Mikotoksini

Mikotoksini su spojevi niske molekulske mase koju nastaju kao sekundarni metaboliti plijesni. Nastali spojevi nisu esencijalni za preživljavanje plijesni već ih one proizvode u trenutku kada imaju izobilje nutrijenata na raspolaganju pa taj višak iskoriste za proizvodnju mikotoksina

Bullerman, 2003). Vrste plijesni koje su značajni proizvođači mikotoksina su *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Claviceps* i *Alternaria* (Oancea i Stoia, 2008). Općenito se radi o skupini spojeva koji se uvelike međusobno razlikuju, a povezuje ih činjenica da mogu izazivati bolesti kod ljudi i životinja – mikotoksikoze. Toksičan učinak mikotoksina na organizam obuhvaća nefrotoksičnost, hepatotoksičnost, neurotoksičnost, mutagenost, karcinogenost te imunosupresiju (Pleadin i sur., 2020). Budući da se radi o vrlo heterogenoj skupini spojeva te je samim time teško napraviti podjelu, mikotoksini se mogu podijeliti s obzirom na organski sustav na koji imaju toksičan učinak, prema tome koje plijesni ih proizvode te, primjerice, prema kemijskoj strukturi. Mikotoksini su iznimno potentni te već u malim koncentracijama mogu izazvati bolesti kod ljudi i životinja. Ulazak mikotoksina u naš organizam je moguć na nekoliko načina: direktnim kontaktom kože sa plijesnima, udisanjem spora plijesni, ali najčešće se radi o konzumaciji hrane kontaminirane mikotoksinima.

Mikotoksini su prirodni i samim time često neizostavni kontaminanti hrane koje konzumiraju i ljudi i životinje te se njihove koncentracije strogo reguliraju upravo zbog njihovog štetnog utjecaja na zdravlje. Neki od mikotoksina koji se često nalaze i u sirovinama i u prerađenim prehrambenim proizvodima su aflatoksini, okratoksin A, fumonizini, zearalenon i patulin.

Gledajući prehrambene proizvode, značajna količina mikotoksina može biti pronađena u žitaricama, uljaricama, mahunarkama, ali i raznom voću i povrću koje, zahvaljujući činjenici da sadrže vodu te su bogati nutrijentima, omogućuje idealne uvjete za razvoj mikotoksinogenih plijesni (Oancea i Stoia 2008). Mikotoksinogene plijesni koje rastu na žitaricama mogu producirati mikotoksine tijekom perioda rasta žitarice, ali i tijekom procesa skladištenja. Rast mikotoksinogenih plijesni je moguć ukoliko su zadovoljeni uvjeti koji im najviše odgovaraju, pritom se misli na temperaturu te razinu vlage. Mikotoksikogene plijesni mogu biti podijeljene u kategorije s obzirom na period u kojem su prisutne u značajnoj mjeri. Plijesni polja su one plijesni koje su u većoj mjeri prisutne tijekom perioda rasta te im odgovaraju veće količine vlage. Radi se plijesnima iz rodova *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium* i *Rhizopus*. Iduću kategoriju čime plijesni skladištenja koje su uvelike prisutne tijekom skladištenja, a za njihov rast nije potrebna velika količina vlage. Treću kategoriju čime plijesni uznapredovalog kvarenja koje rastu na oštećenom zrnju. (Duraković i Duraković, 2003).

Aflatoksini	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>
Fumonizini	<i>Fusarium verticillioides</i> , <i>F. proliferatum</i> , <i>F. nygamai</i> , <i>F. napiforme</i> , <i>F. thapsinum</i> , <i>F. anthophilum</i> , <i>F. dlamini</i>
Okratoksin A	<i>Aspergillus affinis</i> , <i>A. albertensis</i> , <i>A. alliaceus</i> , <i>A. welwitschiae</i> , <i>A. carbonarius</i> , <i>A. cretensis</i> , <i>A. flocculosus</i> , <i>A. lacticoffeatus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. pseudoelegans</i> , <i>A. roseoglobulosus</i> , <i>A. sclerotioniger</i> , <i>A. sclerotiorum</i> , <i>A. steynii</i> , <i>A. sulphureus</i> , <i>A. westerdijkiae</i> , <i>Neopetromyces muricatus</i> , <i>Penicillium nordicum</i> , <i>P. verrucosum</i>
Zearalenon	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. crookwellense</i>

Tablica 1. Najznačajniji mikotoksini i plijesni koje ih proizvode (Palfi i sur., 2020)

1.2.1. *Fusarium*

Plijesni roda *Fusarium* se lako prilagođavaju raznim staništima te se stoga radi o plijesnima koje su široko rasprostranjene. Navedene plijesni su česti kontaminanti hrane (Bullerman, 2003)., a posebno su važne *Fusarium verticillioides* i *Fusarium proliferatum*. Najvažnija grupa mikotoksina za čiju produkciju su odgovorne plijesni roda *Fusarium* je grupa hidrofilnih spojeva fumonizina. Iz navedene grupe ključni su fumonizini B od kojih je od posebnog značaja fumonizin B₁. Ovaj toksin je svrstan u kategoriju karcinogena 2B što znači da postoji mogućnost da izlaganje fumonizinima može dovesti do nastanka karcinoma. (Bertero i sur., 2018). Fumonizin B1 je kod ljudi povezan sa razvojem raka jednjaka (Sydenham i sur. 1991). Fuzarijske mikotoksine karakteristično nalazimo u dijelovima svijeta gdje prevladava umjerena klima, a njihova koncentracija raste tijekom kišnih perioda. Ovaj mikotoksin primarno onečišćuje kukuruz, ali je čest kontaminant žitarica i stočne hrane. Osim fumonizina, plijesni roda *Fusarium*, a posebice *F. graminearum*, proizvode mikotoksin zearalenon. Ovaj mikotoksin može često biti pronađen u uzorcima kukuruza, ali i drugih žitarica. Zearalenon i njegovi metaboliti imaju snažnu estrogenu aktivnost. Budući da dovodi do poremećaja u hormonskom sustavu, zearalenon smatramo endokrinim disruptorom (Bertero i sur., 2018).

1.2.2. *Penicillium*

Penicillium spp. u većoj mjeri raste na područjima na kojima prevladavaju umjerene temperature, ali mu za rast odgovara širok raspon temperatura. Ove plijesni

proizvode mikotoksine uglavnom tijekom procesa skladištenja. Njihova prisutnost je karakteristična za hladnija područja. Ključni mikotoksini koje proizvode plijesni iz roda *Penicillium* su okratoksin A i Patulin. Okratoksin A je produkt plijesni *P. verrucosum* te ga je često moguće naći u prehrambenim proizvodima poput žitarica, kave i začinskog bilja. Neadekvatan proces sušenja te neprimjereno skladištenje su procesi koji potiču stvaranje ovog toksina. Okratoksin A je karcinogen kategorije 2B te su njegovi toksični efekti primarno uočljivi na bubrezima, ali je poznat i toksičan utjecaj na razvitak fetusa i imunosti sustav. (Bui-Klimke i Wu, 2015).

1.2.3. *Aspergillus*

Plijesni iz roda *Aspergillus* karakteristične su za umjerene i toplije dijelove svijeta, primarno tropska i sutropska područjima. Proizvode širok spektar mikotoksina koji su toksični za ljude i životinje, a najvažniji od njih su aflatoksini i okratoksin A. Gledajući skupinu aflatoksina, najznačajniji je aflatoksin B1 budući da se radi o karcinogenu kategorije 1 što znači da je dokazano da uzrokuje nastanak karcinoma u brojnih životinja. Aflatoksin B1 je uzrok hepatocelularnog karcinoma u ljudi te se pokazalo i da je teratogen (Barkai-Golan, 2008). Produkcija aflatoksina značajno raste u sušnim periodima i pri višim temperaturama, a optimalna temperatura za njihovu produkciju je između 24 i 35 °C (Kuvedžić i sur., 2021).

1.2. Utjecaj klimatskih promjena na mikotoksine

Klimatski uvjeti su ključan faktor u produkciji mikotoksina. Na globalnoj razini temperature i razine ugljikova dioksida rastu, a količine padalina znatno variraju, od ekstremnih količina padalina do dugih sušnih razdoblja. Utjecaj navedenih promjena uočljiv je već neko vrijeme te one neće izostati u narednim godinama stoga je važno je predvidjeti kako ove promjene utječu na kolonizaciju biljaka mikotoksinogenim plijesnima te utjecaj navedenih promjena na produkciju mikotoksina.

Zbog varijacija u klimatskim uvjetima u kojima žitarice rastu, moguće je da dođe do promjena u vrsti mikroorganizama koji žive na žitaricama. Govoreći konkretno o mikotoksinogenim plijesnima, moguća je promjena u sastavu i količini proizvedenih mikotoksina. Također, postoje dokazi da zbog promjena u klimatskim uvjetima postoji opcija da se i mikotoksinogene plijesni prošire na područja na kojima ih do sada nije bilo te na taj način prouzroče određenu štetu. (Bebber i sur., 2013).

Baš kao što klimatske promjene imaju utjecaj na životinjski svijet te postoje pretpostavke da će određene vrste izumrijeti kao direktna posljedica istih, ista mogućnost postoji i za određene plijesni. Moguće posljedice promjena u temperaturi mogu imati dvojak efekt. S jedne strane, moguće je da određene plijesni prestanu proizvoditi mikotoksine ili čak u potpunosti prestanu rasti na određenom području budući da su temperature postale previsoke za njihovo preživljavanje. Ovaj scenarij ima i ekstremnu opciju, a to je da određene mikotoksikogene plijesni u potpunosti budu istrijebljene. S druge strane, postoji mogućnost da promijenjeni uvjeti vode do pojave novih mikotoksina koji nanosne štetu biljkama. Moguća je pojava mikotoksinogenih plijesni na područjima na kojima do sada nisu bile prisutne ili nisu bile prisutne u značajnijoj mjeri. Također, visoke temperature u kombinaciji sa UV zračenjem mogu dovesti do mutacija u mikotoksinogenim plijesnima te postoji mogućnost da one počnu proizvoditi neke sasvim nove mikotoksine (Perrone i sur., 2020).

S obzirom na porast temperatura, u budućnosti će prevladavati oni mikotoksini kojima odgovaraju više temperature te se općenito očekuje pojava novih mikotoksina s kojima se do sada nismo susretali u većoj mjeri.

Gledajući područja koja su u najvećem riziku od povećane kontaminacije mikotoksinima, radi se primarno o razvijenim zemljama s umjerenom klimom (Paterson i Lima, 2011). Nastale klimatske promjene u Europi, primarno porast temperatura, omogućuju bolje uvjete za rast plijesni koje odlično uspijevaju u toplijim uvjetima (Paterson i Lima, 2011). Dobar primjer plijesni koja odlično uspijeva u uvjetima viših temperatura i razina vlage je vrsta *Aspergillus flavus*, te samim time raste rizik od veće kontaminacije aflatoksinima (Pleadin i sur., 2020). S druge strane, temperature bi mogle postati previsoke u tropskim krajevima te bi se pojavnost plijesni iz roda *Aspergillus* mogla smaniti (Kuvedžić i sur., 2021). Također, kontaminacija plijesnima iz roda *Fusarium* bi trebala porasti u sjevernim dijelovima Europe, a kontaminacija plijesnima iz roda *Aspergillus* bi trebala porasti u središnjim dijelovima Europe (Battilani i sur., 2012, 2016). S druge strane, mikotoksini patulin i okratoksin A, produkti plijesni iz roda *Penicillium* i *Aspergillus*, mogli bi postati manje značajni budući da je za njihov rast pogodnija umjerena klima te porast temperature ne pogoduje njihovoj produkciji. Međutim, njihova važnost bi mogla postati veća u hladnijim područjima koja porastom temperatura sve više nalikuju područjima umjerene klime (Paterson i Lima, 2010). Sve navedene promjene predstavljat će velik problem u čitavom svijetu kod osiguravanja zdravstvene ispravnosti hrane.

1.3. Klimatske promjene u Republici Hrvatskoj

Prema Strategiji prilagodbe klimatskim promjenama u Republici Hrvatskoj za razdoblje do 2040. godine s pogledom na 2070. godinu (NN/46/2020), efekt klimatskih promjena uočljiv je u Republici Hrvatskoj, a utjecaj će biti jasnije uočljiv u bližoj budućnosti. Sredozemna regija, u koju Hrvatska djelomično spada, jedna je od klimatskih „vrućih točaka“ na kojima su klimatske promjene značajno izražene. Ekstremni vremenski i klimatski događaji koje vežemo uz klimatske promjene su toliko česti u Hrvatskoj da je Hrvatska jedna od nekoliko europskih zemalja koje imaju najveći kumulativni udio šteta od ekstremnih vremenskih i klimatskih događaja u odnosu na bruto nacionalni proizvod prema izvješću Europske agencije za okoliš.

Gledajući konkretne promjene, prema projekcijama, očekuju se nešto veće količine padalina zimi u cijeloj Hrvatskoj, ali posebno u sjevernim i središnjim dijelovima gdje je očekivano između 5 i 10 % veće količine padalina.

U cijeloj Hrvatskoj bi se smanjio broj kišnih razdoblja, ali bi broj sušnih razdoblja postao veći. Sušna razdoblja bi bila češća diljem cijele Hrvatske u jesen te u sjevernim dijelovima tijekom proljeća i ljeta. Do 2070. godine je očekivan porast broja sušnih razdoblja na teritoriju cijele Hrvatske tijekom svih godišnjih doba.

U kontinentalnim dijelovima zemlje značajnije se osjeti porast temperature. Porast temperature najjasnije se može uočiti gledajući maksimalne temperature zraka koje su posebno zamjetne tijekom ljetnog perioda, ali nisu zanemarive niti tijekom ostalih godišnjih doba. Do 2030. godine očekuje se da će srednje godišnje vrijednosti temperature zraka na području cijele Hrvatske porasti za 1,0 do 1,2 °C.

Iako su do sada plijesni iz roda *Fusarium* te njihovi mikotoksini u najvećoj mjeri bili prisutni na kukuruzu, pod utjecajem klimatskih promjena u Hrvatskoj, situacija se promijenila. Iznimno visoke temperature koje su obilježile period uzgoja 2012. godine dovele su do znatnije kontaminacije aflatoksinima, iznimno toksičnim produktom plijesni *A. flavus*.

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Klimatske promjene gorući su problem u cijelome svijetu pa tako i u Republici Hrvatskoj. Postavlja se pitanje kako će se klimatske promjene odraziti na pojavnost plijesni i mikotoksina u žitaricama. Tim se istraživanjem bavi projekt „Istraživanje utjecaja klimatskih promjena na razvoj plijesni, mikotoksina i kvalitetu žitarica s prijedlogom mjera“ (KK.05.1.1.02.0023), kojeg je sufinancirala Europska unija iz Europskog fonda za regionalni razvoj“ u sklopu kojeg je izrađen ovaj diplomski rad.

Specifični ciljevi diplomskog rada su:

- statistički obraditi rezultate koncentracije plijesni u uzorcima kukuruza, ječma i pšenice na području sjeverne, istočne i središnje Hrvatske uzetih za vrijeme vegetacijskog perioda i nakon žetve u 2020. i 2021. godini
- zaključiti postoje li značajne razlike u koncentraciji plijesni i učestalosti pojedinih rodova s obzirom na vrijeme i područje uzorkovanja, odnosno tip žitarice

3. MATERIJALI I METODE

3.1. OPIS UZORKOVANJA

Žitarice uključujući kukuruz (K), pšenicu (P) i ječam (J) sakupljeni su iz tri područja Hrvatske; istočna Hrvatska (IST-HR), središnja Hrvatska (SR-HR) i sjeverna Hrvatska (SJ-HR). Uzorci su sakupljeni u srpnju 2020. i 2021 u vrijeme vegetacijskog perioda i nakon žetve (prosinac 2020.). Sakupljeno je po 10 uzoraka svakog tipa žitarice u pojedinom periodu uzorkovanja, npr: 10 K + 10 P + 10 J u IST-HR u srpnju 2020.; 10 K + 10 P + 10 J u SR-HR u srpnju 2020.; 10 K + 10 P + 10 J u SJ-HR u srpnju 2020. U pojedinom periodu uzorkovanja sakupljeno je po 90 uzoraka (30 K + 30 P + 30 J), odnosno kroz tri perioda uzorkovanja sakupljeno je ukupno 270 uzoraka žitarica.

Broj plijesni po gramu uzorka žitarica (koncentracija plijesni) određen je na dvije hranjive podloge, Dikloran 18% glicerolni agar (DG-18) i Dikloran rose bengal kloramfenikol agar (DRBC). DG-18 podloga koristi se za prebrojavanje osmofilnih kvasaca i kserofilnih plijesni u hrani koje rastu pri aktivitetu vode manjom od 0,95, a DRBC podloga se koristi za prebrojavanje kvasaca i plijesni, ali s aktivnošću vode većom od 0,95.

3.2. STATISTIČKA OBRADA REZULTATA

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost koncentracije plijesni i standardna pogreška aritmetičke sredine (SEM) tj. broj jedinica formiranja kolonija (*engl.* colony forming unit, CFU) po gramu (CFU/g \pm SEM) na hranjivim podlogama DG-18 i DRBC. Kako bi prikaz rezultata bio pregledniji, na grafovima su koncentracija plijesni CFU/g \pm SEM prikazane na logaritamskoj skali (\log_{10}). Podaci su statistički obrađeni jednosmjernom analizom varijance (ANOVA) i post-testom (Tukey) komparacije različitih skupina podataka, za nivo značajnosti $p \leq 0,05$. Također, tablično je prikazana učestalost (%) pojedinih rodova i vrsta plijesni s obzirom na vrijeme i područje uzorkovanja kao i tip žitarice.

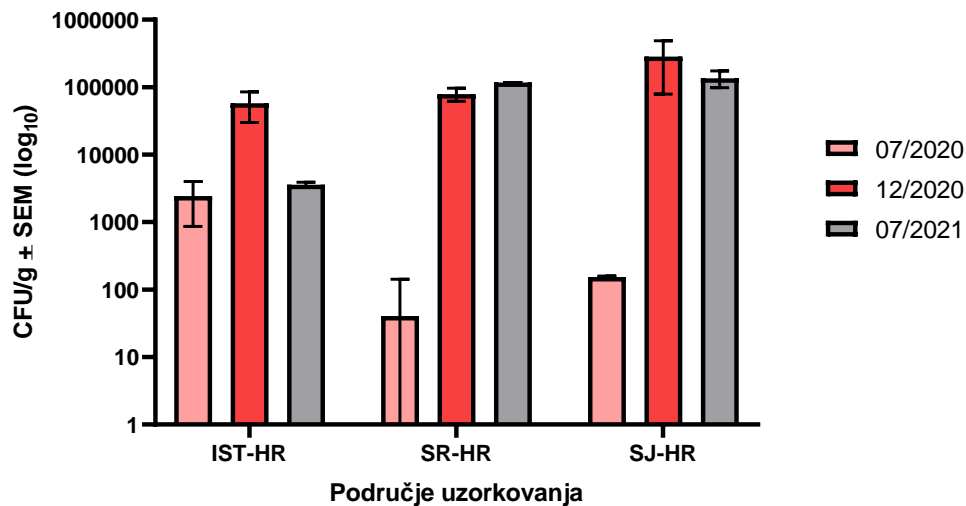
4. REZULTATI I RASPRAVA

Uzorci žitarica sakupljani su u različitim fazama tj. u vrijeme vegetacije i nakon žetve u tri različita područja Hrvatske te je postavljeno pitanje utječe li period uzorkovanja, odnosno područje uzorkovanja, na pojavnost plijesni u pojedinom tipu žitarice? Primjena DG-18 podloge pogodne za kserofilne vrste te DRBC podloge za vrste koje zahtijevaju više slobodne vode u podlozi, omogućava bolji uvid u kvalitativni i kvantitativni sastav plijesni koje kontaminiraju žitarice.

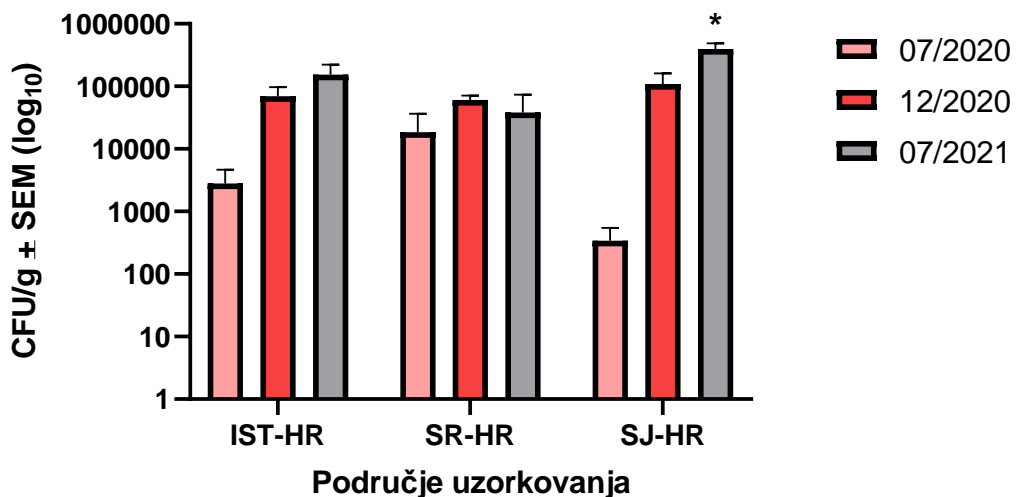
Slika 1 prikazuje koncentracije plijesni porasle na DG-18 (1A) i DRBC (1B) iz uzoraka kukuruza koji je uzorkovan kroz tri perioda u tri različita područja Hrvatske. Najmanje koncentracije zabilježene su u prvom periodu vegetacije (srpanj 2020.) (najmanje vrijednosti su zabilježene u uzorcima iz središnje Hrvatske gdje srednja vrijednost koncentracije iznosi 40,60 CFU/g, a najveće u istočnoj Hrvatskoj gdje srednja vrijednosti koncentracije iznosi 2436 CFU/g), a znatno više nakon žetve (minimalne srednje koncentracije su pronađene u uzorcima iz istočne Hrvatske te iznose 57590 CFU/g, a najveće u sjevernoj Hrvatskoj te iznose 283650 CFU/g) i u drugom vegetacijskom periodu (najmanje srednje vrijednosti koncentracije pronađene su u uzorcima iz sjeverne Hrvatske te iznose 3598 CFU/g, a najveće u uzorcima iz sjeverne Hrvatske te iznose 135700 CFU/g). Pri tom je najveća koncentracija plijesni u kukuruzu zabilježena u sjevernoj Hrvatskoj nakon žetve (283650 CFU/g). (Slika 1A)

Na podlozi DRBC, najmanje koncentracije zabilježene su u prvom periodu vegetacije, srpanj 2020. godine, (najmanje vrijednosti su zabilježene u uzorcima iz sjeverne Hrvatske gdje srednja vrijednost koncentracije iznosi 342,2 CFU/g, a najveće u središnjoj Hrvatskoj gdje srednja vrijednosti koncentracije iznosi 18427 CFU/g). Srednje vrijednosti koncentracije plijesni su više nakon žetve (minimalne srednje koncentracije su pronađene u uzorcima iz središnje Hrvatske te iznose 60720 CFU/g, a najveće u sjevernoj Hrvatskoj te iznose 108680 CFU/g) i u drugom vegetacijskom periodu (najmanje srednje vrijednosti koncentracije pronađene su u uzorcima iz središnje Hrvatske te iznose 38340 CFU/g, a najveće u uzorcima iz sjeverne Hrvatske te iznose 394600 CFU/g). Pritom je najveća koncentracija plijesni u kukuruzu zabilježena u sjevernoj Hrvatskoj u prvom periodu vegetacije (394600 CFU/g). Postoji statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u srednjoj vrijednosti koncentracije plijesni između uzoraka iz središnje Hrvatske i sjeverne Hrvatske uzetih u srpnju 2021. godine. (Slika 1B)

Gledajući dobivene podatke, jasno je da uzorci kukuruza iz prvog vegetacijskog perioda, neovisno dijelu Hrvatske u kojem su uzeti, sadrže najmanje koncentracije plijesni. Na podlozi DG-18, najveće koncentracije plijesni su pronađene u uzorcima iz sjeverne Hrvatske u svakom od tri vremenska perioda. Općenito, najveće koncentracije plijesni su prisutne u uzorcima uzetim nakon žetve. Na podlozi DRBC, uglavnom su najveće koncentracije plijesni pronađene u uzorcima iz drugog vegetacijskog perioda.



Slika 1A. Koncentracija plijesni poraslih na DG-18 podlozi nakon uzorkovanja kukuruza u dva vegetacijska perioda (07/2020 i 07/2021) i nakon žetve (12/2020) u tri područja Hrvatske

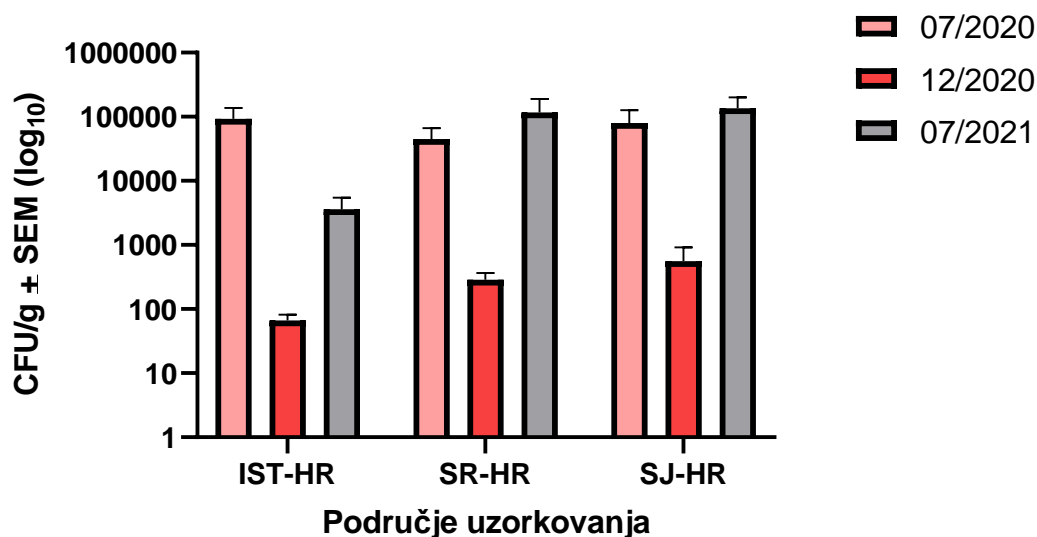


Slika 1B. Koncentracija plijesni poraslih na DRBC podlozi nakon uzorkovanja kukuruza u dva vegetacijska perioda (07/2020 i 07/2021) i nakon žetve (12/2020) u tri područja Hrvatske (* $p < 0,05$, SR-HR vs. SJ-HR, 07/2021).

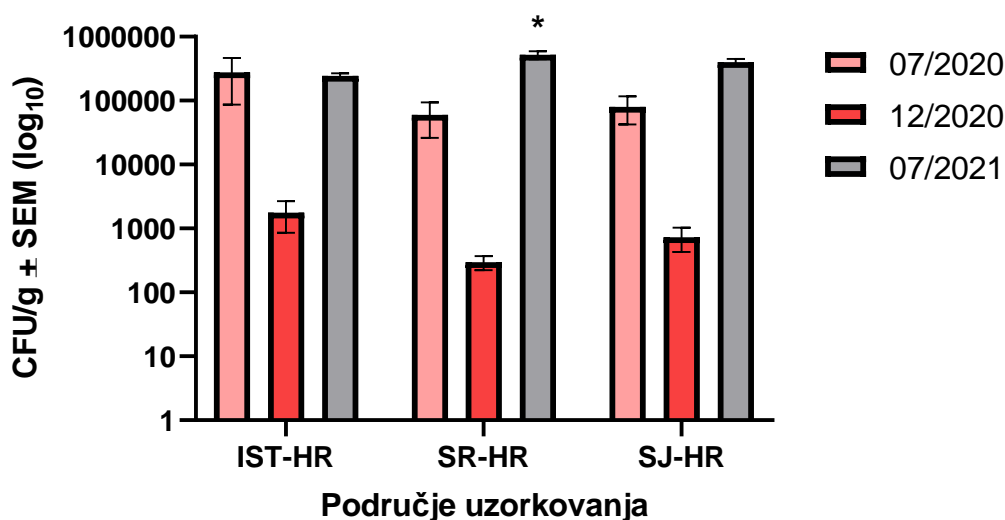
Slika 2 prikazuje koncentracije plijesni porasle na DG-18 (1A) i DRBC (1B) iz uzoraka pšenice koji je uzorkovan kroz tri perioda u tri različita područja Hrvatske. Daleko najmanje koncentracije zabilježene su nakon žetve (najmanje vrijednosti su zabilježene u uzorcima iz istočne Hrvatske gdje srednja vrijednost koncentracije iznosi 66,5 CFU/g, a najveće u sjevernoj Hrvatskoj gdje srednja vrijednosti koncentracije iznosi 560,9 CFU/g), a znatno više u prvom vegetacijskom periodu (minimalne srednje koncentracije su pronađene u uzorcima iz središnje Hrvatske te iznose 44960 CFU/g, a najveće u istočnoj Hrvatskoj te iznose 92714 CFU/g) i u drugom vegetacijskom periodu (najmanje srednje vrijednosti koncentracije pronađene su u uzorcima iz istočne Hrvatske te iznose 3598 CFU/g, a najveće u uzorcima iz sjeverne Hrvatske te iznose 135700 CFU/g). Najveća koncentracija plijesni u pšenici zabilježena je u sjevernoj Hrvatskoj u drugom vegetacijskom periodu (135700 CFU/g). (Slika 2A)

Na podlozi DRBC, najmanje koncentracije zabilježene su nakon žetve, (najmanje vrijednosti su zabilježene u uzorcima iz središnje Hrvatske gdje srednja vrijednost koncentracije iznosi 297,2 CFU/g, a najveće u istočnoj Hrvatskoj gdje srednja vrijednosti koncentracije iznosi 1765 CFU/g). Srednje vrijednosti koncentracije plijesni više su u prvom vegetacijskom periodu (minimalne srednje koncentracije su pronađene u uzorcima iz središnje Hrvatske te iznose 79800 CFU/g, a najveće u istočnoj Hrvatskoj te iznose 276263 CFU/g) i u drugom vegetacijskom periodu (najmanje srednje vrijednosti koncentracije pronađene su u uzorcima iz istočne Hrvatske te iznose 244000 CFU/g, a najveće u uzorcima iz središnje Hrvatske te iznose 520000 CFU/g). Najveća koncentracija plijesni u pšenici zabilježena u središnjoj Hrvatskoj u drugom periodu vegetacije (520000 CFU/g). Postoji statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u srednjoj vrijednosti koncentracije plijesni između uzoraka iz sjeverne Hrvatske i istočne Hrvatske uzetih u srpnju 2021. godine. (Slika 2B)

Za uzorke pšenice uzete nakon žetve karakteristično je to što sadrže znatno niže koncentracije plijesni u odnosu na ostala dva perioda. Uzorci uzgajani na podlozi DG-18 pokazuju da su najviše koncentracije plijesni postignute u uzorcima iz drugog vegetacijskog perioda, uz iznimku uzoraka iz istočne Hrvatske iz prvog vegetacijskog perioda. Uzorci iz drugog vegetacijskog perioda uzgajani na podlozi DRBC pokazuju uglavnom najveće koncentracije u drugom vegetacijskom periodu.



Slika 2A. Koncentracija plijesni poraslih na DG-18 podlozi nakon uzorkovanja pšenice u dva vegetacijska perioda (07/2020 i 07/2021) i nakon žetve (12/2020) u tri područja Hrvatske

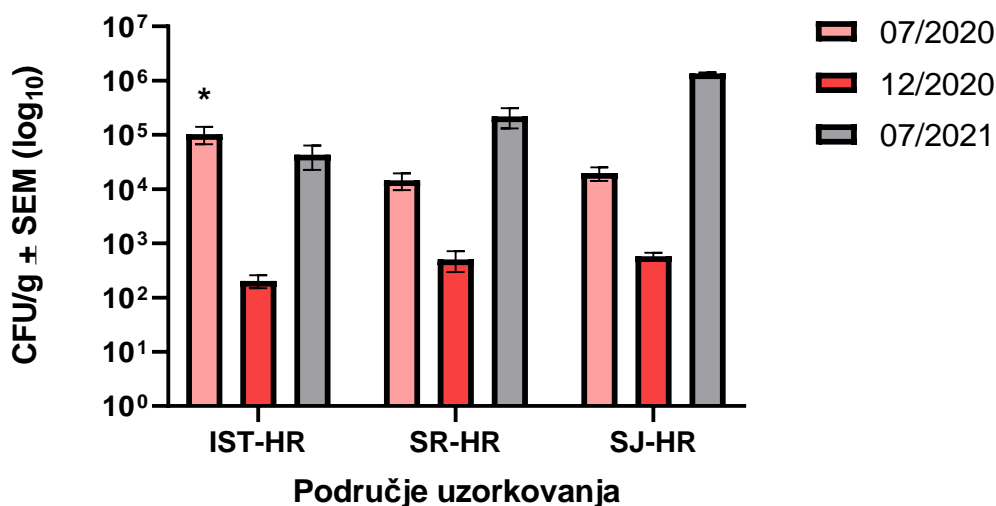


Slika 2B. Koncentracija plijesni poraslih na DRBC podlozi nakon uzorkovanja pšenice u dva vegetacijska perioda (07/2020 i 07/2021) i nakon žetve (12/2020) u tri područja Hrvatske (* $p < 0,05$, SR-HR vs. IST-HR, 07/2021)

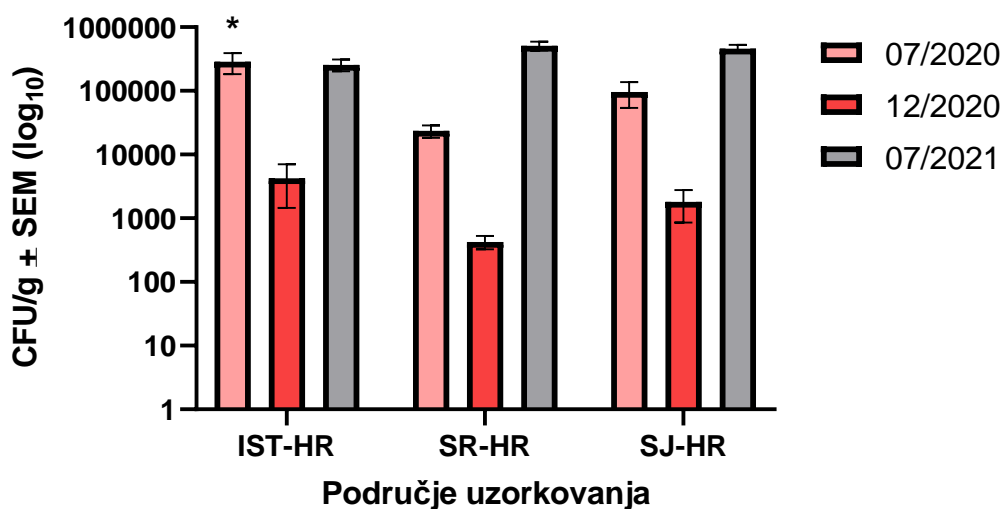
Slika 3 prikazuje koncentracije plijesni porasle na DG-18 (3A) i DRBC (3B) iz uzoraka ječma koji je uzorkovan kroz tri perioda u tri različita područja Hrvatske. Najmanje koncentracije zabilježene su nakon žetve (najmanje vrijednosti su zabilježene u uzorcima iz istočne Hrvatske gdje srednja vrijednost koncentracije iznosi 202,6 CFU/g, a najveće u sjevernoj Hrvatskoj gdje srednja vrijednosti koncentracije iznosi 578,1 CFU/g), a znatno više u prvom vegetacijskom periodu (najmanje srednje vrijednosti koncentracije pronađene su u uzorcima iz središnje Hrvatske te iznose 14580 CFU/g, a najveće u uzorcima iz istočne Hrvatske te iznose 103400 CFU/g) i u drugom vegetacijskom periodu (najmanje srednje vrijednosti koncentracije pronađene su u uzorcima iz istočne Hrvatske te iznose 43160 CFU/g, a najveće u uzorcima iz sjeverne Hrvatske te iznose 1366900 CFU/g). Pri tom je najveća koncentracija plijesni u ječmu zabilježena u sjevernoj Hrvatskoj u drugom vegetacijskom periodu (1366900 CFU/g). Postoji statistički značajna razlika ($p < 0,05$) između uzoraka ječma iz istočne Hrvatske iz srpnja 2020., u odnosu na uzorke iz sjeverne i središnje Hrvatske. (Slika 3A)

Na podlozi DRBC, najmanje koncentracije zabilježene su nakon žetve (najmanje vrijednosti su zabilježene u uzorcima iz središnje Hrvatske gdje srednja vrijednost koncentracije iznosi 426,2 CFU/g, a najveće u istočnoj Hrvatskoj gdje srednja vrijednosti koncentracije iznosi 4261 CFU/g), a znatno više u prvom vegetacijskom periodu (najmanje srednje vrijednosti koncentracije pronađene su u uzorcima iz središnje Hrvatske te iznose 23500 CFU/g, a najveće u uzorcima iz istočne Hrvatske te iznose 286600 CFU/g) i u drugom vegetacijskom periodu (najmanje srednje vrijednosti koncentracije pronađene su u uzorcima iz istočne Hrvatske te iznose 256800 CFU/g, a najveće u uzorcima iz središnje Hrvatske te iznose 510000 CFU/g). Pri tom je najveća koncentracija plijesni u ječmu zabilježena u središnjoj Hrvatskoj u drugom vegetacijskom periodu (510000 CFU/g). Statistički značajna razlika ($p < 0,05$) postoji između uzoraka ječma iz istočne Hrvatske i središnje Hrvatske uzetim u srpnju 2020. godine.. (Slika 3B)

Slično kao kod uzoraka pšenice, znatno manje koncentracije plijesni prisutne su uzorcima uzetim nakon žetve u odnosu na ostala dva perioda. Uzorci uzgajani na podlozi DG-18 pokazuju da uzorci uzeti u drugom vegetacijskom periodu postižu najveće koncentracije plijesni, osim uzoraka iz istočne Hrvatske gdje su koncentracije plijesni uzoraka iz prvog vegetacijskog perioda nešto veće u odnosu na one iz prvog vegetacijskog perioda. Uzorci uzgajani na podlozi DRBC također sadrže najveće koncentracije plijesni u drugom vegetacijskom periodu, ponovno uz iznimku uzoraka iz istočne Hrvatske gdje su koncentracije plijesni uzoraka iz prvog vegetacijskog perioda nešto veće u odnosu na one iz prvog vegetacijskog perioda.



Slika 3A. Koncentracija plijesni poraslih na DG-18 podlozi nakon uzorkovanja ječma u dva vegetacijska perioda (07/2020 i 07/2021) i nakon žetve (12/2020) u tri područja Hrvatske (* $p < 0,05$, SR-HR vs. IST-HR i IST-HR vs. SJ-HR, 07/2020)



Slika 3B. Koncentracija plijesni poraslih na DRBC podlozi nakon uzorkovanja ječma u dva vegetacijska perioda (07/2020 i 07/2021) i nakon žetve (12/2020) u tri područja Hrvatske (* $p < 0,05$, IST-HR vs. SR-HR, 07/2020)

Tablica 2. Učestalost pojedinih rodova plijesni poraslih na DG-18 i DRBC podlozi nakon uzorkovanja kukuruza u dva vegetacijska perioda (07/2020 i 07/2021) i nakon žetve (12/2020)

Plijesni DG-18	SJ-HR (%)			IST-HR(%)			SR-HR (%)		
	07./20.	12./20.	07./21.	07./20.	12./20.	07./21.	07./20.	12./20.	07./21.
<i>Absidia</i>	0	20	0	0	0	0	0	0	0
<i>Acremonium</i>	0	70	20	0	70	0	0	80	0
<i>Alternaria</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus</i>	0	20	20	0	50	0	0	0	0
<i>Chrysonilia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cladosporium</i>	80	10	100	33	40	40	60	10	20
<i>Epicoccum</i>	20	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Fusarium</i>	0	60	0	17	50	0	0	90	0
<i>Mucor</i>	0	0	0	0	10	0	0	20	0
<i>Paecilomyces</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium</i>	0	50	40	0	60	0	0	0	0
<i>Phoma</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Wallemia</i>	0	30	0	0	20	0	0	0	0
kvasci	20	0	100	100	10	40	40	20	80
Plijesni DRBC	SJ-HR (%)			IST-HR(%)			SR-HR (%)		
	07./20.	12./20.	07./21.	07./20.	12./20.	07./21.	07./20.	12./20.	07./21.
<i>Absidia</i>	0	0	0	0	20	0	0	0	0
<i>Acremonium</i>	0	20	0	0	70	0	0	10	0
<i>Alternaria</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus</i>	0	0	0	0	30	0	0	0	20
<i>Chrysonilia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cladosporium</i>	80	0	60	17	20	20	80	0	60
<i>Epicoccum</i>	20	0	0	0	0	0	80	0	0
<i>Fusarium</i>	60	70	0	33	60	0	20	90	0
<i>Mucor</i>	0	20	40	0	10	0	0	10	0
<i>Paecilomyces</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium</i>	20	0	0	0	30	0	0	100	0
<i>Phoma</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Wallemia</i>	0	0	0	0	0	0	0	50	20
kvasci	40	0	100	100	40	100	0	10	100

Uzorci kukuruza uzgojeni na hranjivoj podlozi DG-18 iz srpnja 2020. godine u najvećoj mjeri sadrže plijesni iz roda *Cladosporium* i kvasce. 80% uzoraka iz sjeverne Hrvatske sadrži *Cladosporium* te po 20% uzoraka sadrži plijesni iz roda *Epicoccum* i kvasce. U svim uzorcima iz istočne Hrvatske nalaze se kvasci, u 33% uzoraka pronađene su plijesni iz roda *Cladosporium*, a 17% uzoraka sadrži plijesni iz roda *Fusarium* i *Mucor*. U 60% uzoraka iz središnje Hrvatske nalazi se plijesni iz roda *Cladosporium* te u 40% uzoraka su kvasci. Gledajući uzorke uzgajane na podlozi DRBC, vidimo da 80% uzoraka iz središnje i sjeverne Hrvatske dominiraju plijesni iz roda *Cladosporium* (80%). U uzorcima iz sjeverne Hrvatske prisutne su i plijesni iz roda *Fusarium* (60%), kvasci (40%) i *Penicillium* (20%). U 80% uzoraka iz središnje Hrvatske pronađene su i plijesni iz roda *Epicoccum* i *Fusarium* u 20% uzoraka. U uzorcima iz istočne Hrvatske dominiraju kvasci koji su prisutni u svim uzorcima te plijesni iz roda *Fusarium* (33%) i *Cladosporium* (17%).

Uzorci uzeti u prosincu 2020. godine u odnosu na uzorke iz srpnja iste godine razlikuju se po tome što je prisutan nešto širi spektar različitih plijesni u uzorcima, ali i po pojavi rodova plijesni koji izazivaju određenu zabrinutost poput plijesni iz roda *Aspergillus*.

Uzorci kukuruza uzgajani na podlozi DG-18 u velikoj mjeri sadrže plijesni iz rodova, *Acremonia* (70% u uzorcima iz sjeverne i istočne Hrvatske), *Fusarium* (60%), *Penicillium* (50%) *Wallemia* (30%) i *Absidia* (20%). Plijesni iz roda *Penicillium* su u znatnijoj mjeri prisutne u uzorcima iz sjeverne (50%) i istočne (60%) Hrvatske, dok ih u uzorcima iz središnje Hrvatske nema. *Aspergillus* je pronađen u 50% uzoraka kukuruza iz istočne Hrvatske. Uzorci uzgajani na podlozi DRBC također pokazuju znatnu prisutnost *Fusariuma* (90% u središnjoj, 70% u sjevernoj te 60% u istočnoj Hrvatskoj) u uzorcima, prisutni su i *Penicillium* (60% uzoraka iz istočne i 50% uzoraka iz sjeverne Hrvatske), kvasci, *Acremonia* i *Wallemia*.

U svim uzorcima kukuruza iz srpnja 2021. godine iz sjeverne Hrvatske uzgajani na podlozi DG-18 prisutne su plijesni iz roda *Cladosporium* te kvasci. U 40% uzoraka pronađene su plijesni iz roda *Penicillium* te u 20% uzoraka su pronađene plijesni iz roda *Aspergillus* i *Acremonium*. U 40% uzoraka iz istočne Hrvatske pronađene su plijesni iz roda *Cladosporium* i kvasci. Uzorci iz središnje Hrvatske sadrže iste rodove plijesni, ali su plijesni iz roda *Cladosporium* prisutne u 20% uzoraka, a kvasci u 80% uzoraka. Uzorci kukuruza uzgajani na podlozi DRBC sadrže plijesni iz roda *Cladosporium* (60%) te kvasce koji su prisutni u svim uzorcima. Svi uzorci iz istočne Hrvatske sadrže kvasce te 20% uzoraka sadrži plijesni iz roda *Cladosporium*. Svi uzorci iz središnje Hrvatske sadrže kvasce, njih 60% sadrži plijesni iz roda *Cladosporium* te su u 20% uzoraka pronađene plijesni iz rodova *Aspergillus* i *Wallemia*.

Tablica 3. Učestalost pojedinih rodova plijesni poraslih na DG-18 i DRBC podlozi nakon uzorkovanja ječma u dva vegetacijska perioda (07/2020 i 07/2021) i nakon žetve (12/2020)

Plijesni DG-18	SJ-HR (%)			IST-HR(%)			SR-HR (%)		
	07./20.	12./20.	07./21.	07./20.	12./20.	07./21.	07./20.	12./20.	07./21.
<i>Absidia</i>	0	10	0	0		0	0	0	0
<i>Acremonium</i>	0	90	0	0	10	0	0	60	0
<i>Alternaria</i>	20	10	0	0	20	0	20	10	0
<i>Aspergillus</i>	0	10	0	0	70	0	0	20	0
<i>Chrysonilia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cladosporium</i>	100	70	80	100	30	80	100	40	100
<i>Epicoccum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Fusarium</i>	80	60	20	80	0	0	40	0	0
<i>Mucor</i>	20	10	0	0	10	0	0	0	0
<i>Paecilomyces</i>	0	0	0	20	0	0	0	0	0
<i>Penicillium</i>	0	50	40	0	0	0	100	10	20
<i>Phoma</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Wallemia</i>	0	0	0	0	0	0	0	20	0
kvasci	0	60	100	100	100	80	100	100	100
Plijesni DRBC	SJ-HR (%)			IST-HR(%)			SR-HR (%)		
	07./20.	12./20.	07./21.	07./20.	12./20.	07./21.	07./20.	12./20.	07./21.
<i>Absidia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Acremonium</i>	0	0	0	0	10	0	0	40	0
<i>Alternaria</i>	0	40	60	0	0	0	0	10	40
<i>Aspergillus</i>	0	0	0	0	40	0	0	0	0
<i>Chrysonilia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cladosporium</i>	80	40	0	100	30	80	100	40	80
<i>Epicoccum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	20
<i>Fusarium</i>	60	50	80	100	20	40	40	0	0
<i>Mucor</i>	0	0	60	0	0	20	0	0	40
<i>Paecilomyces</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium</i>	0	50	60	40	0	0	40	20	0
<i>Phoma</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Wallemia</i>	0	0	0	0	0	0	0	20	0
kvasci	100	80	100	100	100	100	100	100	100

U uzorcima ječma uzgajanim na podlozi DRBC iz srpnja 2020. godine jasna je dominacija plijesni iz roda *Cladosporium* i kvasaca koji su prisutni u svim uzorcima. Uzorci iz sjeverne Hrvatske također sadrže plijesni iz roda *Fusarium* (80%), *Alternaria* i *Mucor* (20% oboje). U uzorcima iz istočne Hrvatske plijesni iz roda *Fusarium* su također prisutne u 80% uzoraka uz plijesni iz roda *Alternaria* i *Paecilomyces* u 20% uzoraka. Svi uzorci iz središnje Hrvatske sadrže plijesni iz roda *Penicillium* te 20% uzoraka *Alternaria*. Svi uzorci ječma uzgajani na podlozi DRBC sadrže kvasce. Također, svi uzorci iz istočne Hrvatske sadrže plijesni iz roda *Fusarium* i *Cladosporium* te 40% uzoraka *Penicillium*. U uzorcima iz sjeverne Hrvatske pojavljuju je plijesni iz roda *Cladosporium* (80%) i *Fusarium* (60%). U svim uzorcima iz središnje Hrvatske pronađene su plijesni iz roda *Cladosporium* te *Fusarium* i *Penicillium* u 40% uzoraka.

U uzorcima ječma iz prosinca 2020. godine uzgojenih na podlozi DG-18 prisutni su kvasci u svim uzorcima iz istočne i središnje Hrvatske te u 60% uzoraka iz sjeverne Hrvatske. *Cladosporium* je prisutan u velikoj mjeri, posebno u uzorcima iz sjeverne Hrvatske gdje je pronađen u 70% uzoraka. U 70% uzoraka iz istočne Hrvatske prisutne su plijesni iz roda *Aspergillus* te u jednom uzorku iz sjeverne Hrvatske i u dva iz istočne Hrvatske. Na podlozi DRBC također se pokazala velika prisutnost kvasaca u uzorcima iz sva tri dijela Hrvatske. U znatnoj mjeri prisutni su plijesni iz rodova *Fusarium*, *Cladosporium* i *Penicillium*.

U uzorcima ječma iz srpnja 2021. godine uzgajani na podlozi DRBC iz sjeverne Hrvatske dominiraju kvasci (100%), slijede plijesni iz roda *Cladosporium* (80%), *Penicillium* (40%) i *Fusarium* (20%). U 80% uzoraka ječma iz istočne Hrvatske pronađene su plijesni iz roda *Cladosporium* te kvasci. Svi uzorci iz središnje Hrvatske sadrže plijesni iz roda *Cladosporium* i kvasce, a plijesni iz roda *Penicillium* su prisutne u 20% uzoraka. U uzorcima ječma uzgajanim na podlozi DRBC iz sjeverne Hrvatske dominiraju kvasci koji su prisutni u svim uzorcima, slijede plijesni iz roda *Fusarium* (80%) te su plijesni iz roda *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria* i *Mucor* prisutne u 60% uzoraka. Kvasci dominiraju u uzorcima iz središnje Hrvatske (100%), slijede plijesni iz roda *Cladosporium* koje su prisutne u 80% uzoraka, *Alternaria* i *Mucor* u 40% uzoraka i *Fusarium* u 20% uzoraka.

Tablica 4. Učestalost pojedinih rodova plijesni poraslih na DG-18 i DRBC podlozi nakon uzorkovanja pšenice u dva vegetacijska perioda (07/2020 i 07/2021) i nakon žetve (12/2020)

Plijesni DG-18	SJ-HR (%)			IST-HR(%)			SR-HR (%)		
	07./20.	12./20.	07./21.	07./20.	12./20.	07./21.	07./20.	12./20.	07./21.
<i>Absidia</i>	0	10	0	0	0	0	0	30	0
<i>Acremonium</i>	0	50	0	0	0	0	0	50	0
<i>Alternaria</i>	60	0	0	60	20	0	40	10	0
<i>Aspergillus</i>	0	0	0	0	20	0	0	10	0
<i>Chrysonilia</i>	0	0	20	0	0	0	0	0	0
<i>Cladosporium</i>	100	0	80	100	30	0	100	70	40
<i>Epicoccum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Fusarium</i>	80	10	0	80	0	0	80	30	0
<i>Mucor</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Paecilomyces</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium</i>	0	30	0	0	20	0	0	70	0
<i>Phoma</i>	20	0	0	0	20	0	0	0	0
<i>Wallemia</i>	0	10	0	0	0	20	20	0	0
kvasci	100	30	0	100	60	100	100	60	100
Plijesni DRBC	SJ-HR (%)			IST-HR(%)			SR-HR (%)		
	07./20.	12./20.	07./21.	07./20.	12./20.	07./21.	07./20.	12./20.	07./21.
<i>Absidia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Acremonium</i>	0	40	0	0	0	0	0	0	0
<i>Alternaria</i>	0	0	40	0	60	0	0	50	20
<i>Aspergillus</i>	0	0	0	0	20	0	0	20	0
<i>Chrysonilia</i>	0	0	20	0	0	0	0	0	0
<i>Cladosporium</i>	100	0	100	86	30	80	100	60	20
<i>Epicoccum</i>	0	0	0	71	0	0	0	0	0
<i>Fusarium</i>	80	0	0	71	50	20	60	50	0
<i>Mucor</i>	0	0	40	0	0	0	0	10	20
<i>Paecilomyces</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium</i>	0	40	0	0	40	0	0	50	0
<i>Phoma</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Wallemia</i>	0	10	0	0	0	0	0	10	0
kvasci	100	60	80	0	90	100	100	90	100

Svi uzorci pšenice iz srpnja 2020. godine uzgajani na podlozi DG-18 sadrže kvasce i plijesni iz roda *Cladosporium*. 80% svih uzoraka sadrži plijesni iz roda *Fusarium*. 60% uzoraka iz sjeverne i istočne Hrvatske te 40 % uzoraka iz središnje Hrvatske sadrži plijesni iz roda *Alternaria*. Plijesni iz roda *Phoma* pojavljuju se u 20% uzoraka iz sjeverne i istočne Hrvatske. Svi uzorci pšenice uzgajani na podlozi DRBC iz sjeverne i središnje Hrvatske sadrže kvasce i plijesni iz roda *Cladosporium*. 80% uzoraka iz sjeverne Hrvatske sadrži plijesni iz roda *Fusarium*. Uzorci iz istočne Hrvatske dominantno sadrže plijesni iz roda *Cladosporium* (86%) te *Fusarium* i kvasce (71%). 60% uzoraka iz središnje Hrvatske sadrže plijesni iz roda *Fusarium*.

Uzorci pšenice iz prosinca 2020. godine uzgajani na podlozi DG-18 sadrže primarno plijesni iz rodova *Penicillium*, *Cladosporium*, *Acremonia* (osim uzoraka iz istočne Hrvatske), kvasce te je *Aspergillus* prisutan u 20% uzoraka isključivo iz istočne Hrvatske. Uzorci pšenice uzgajani na podlozi DRBC imaju relativno sličan sastav plijesni kao uzorci uzgajani na podlozi DG-18 uz iznimku plijesni iz roda *Fusarium* koje su pronađene u polovici uzoraka iz istočne i središnje Hrvatske, nešto veću pojavnost kvasaca u uzorcima te je *Aspergillus* pronađen u 20% uzoraka iz istočne i središnje Hrvatske.

Uzorci pšenice iz srpnja 2021. godine uzgojeni na podlozi DG-18 sadrže plijesni iz roda *Cladosporium* (80%) te *Chrysonilia* (20%). Svi uzorci iz istočne Hrvatske sadrže isključivo kvasce. Svi uzorci iz središnje Hrvatske sadrže kvasce te 40% uzoraka sadrži plijesni iz roda *Cladosporium*. Gledajući uzorke pšenice uzgojene na podlozi DRBC iz sjeverne Hrvatske, dominiraju plijesni iz roda *Cladosporium* (100%), slijede kvasci (80%), *Alternaria* i *Mucor* u 40% uzoraka te *Chrysonilia* u 20% uzoraka. Svi uzorci iz istočne Hrvatske sadrže kvasce, 80% uzoraka sadrži plijesni iz roda *Cladosporium*, 60% uzoraka sadrži plijesni iz roda *Alternaria* te 20% uzoraka sadrži plijesni iz roda *Fusarium*. Svi uzorci iz središnje Hrvatske sadrže kvasce te po 20% uzoraka sadrži plijesni iz rodova *Cladosporium*, *Alternaria* i *Mucor*.

Dobiveni rezultati pokazuju da postoje razlike u kvalitativnom i kvantitativnom sastavu plijesni ne samo između dva perioda iste godine (srpanj i prosinac 2020. godine), nego i između rezultata iz srpnja 2020. godine i srpnja 2021. godine.

Prema podacima DHMZ-a za srpanj 2020. godine, temperatura zraka izmjerena na većini postaja nije odstupala od prosjeka normale 1981.-2010. Oborine su također na većini postaja bile prosječne ili čak ispod prosječne, ali su dijelovi središnje Hrvatske okarakterizirani kao kišni. U ovom periodu su uzorci kukuruza sadržali daleko manje koncentracije plijesni u odnosu na uzorke pšenice i ječma. Uzorci pšenice i ječma iz istočne Hrvatske pokazali su se kao uzorci s najvećim koncentracijama plijesni. Općenito, uzorci iz istočne Hrvatske u ovom periodu sadrže najveće koncentracije plijesni. U uzorcima kukuruza dominirale su plijesni iz rodova *Cladosporium*, *Fusarium* i kvasci. Isti rodovi plijesni dominiraju u uzorcima pšenice i ječma, samo su prisutni u većem broju uzoraka u odnosu na uzorke kukuruza. Prisutnost plijesni iz roda *Penicillium* uočljiva je u većoj mjeri samo u uzorcima ječma.

Gledajući podatke DHMZ-a za srpanj 2021. godine, temperature zraka na svim postajama su bile u velikoj mjeri više od prosječnih. Temperaturne prilike u sjevernoj Hrvatskoj i dijelovima istočne Hrvatske u tom periodu su opisane kao vrlo tople (odstupanje od 91 do 98 percentila u odnosu na normalu 1981.-2010.) dok je ostatak istočne Hrvatske i većina središnje Hrvatske raspodijeljena u kategoriju ekstremno toplo (odstupanje od 98 do 100 percentila u odnosu na normalu 1981.-2010.). Količine padalina su na većini postaja bile normalne, značajno je samo da je dio istočne Hrvatske okarakteriziran kao kišan (odstupanje u od 75 do 91 percentila u odnosu na normalu 1981.-2010.).

Niti jedan uzorak iz srpnja 2020. godine nije sadržao plijesni iz roda *Aspergillus*, a 2021. godine 20% uzoraka kukuruza iz sjeverne Hrvatske sadrži navedeni rod plijesni. Također, plijesni iz roda *Fusarium* uvelike su prisutne u uzorcima pšenice i ječma iz svih predjela Hrvatske u srpnju 2020. godine, a 2021. godine *Fusarium* nalazimo samo u 20% uzoraka ječma iz sjeverne Hrvatske (podloga DG-18) te 80% uzoraka ječma iz istog predjela uzgajanih na podlozi DRBC. Od značajnije prisutnih rodova plijesni, kvasci su prisutni kod svih žitarica u uzorcima iz gotovo svih predjela Hrvatske, osim uzoraka pšenice iz sjeverne Hrvatske uzgajanih na podlozi DG-18. Svi uzorci kukuruza i ječma uzgajani na podlozi DRBC iz ovog perioda sadrže kvasce. U većoj mjeri prisutan je i *Penicillium* u uzorcima kukuruza i ječma, ali ne i u uzorcima pšenice.

Temperature u prosincu 2020. godine su na svim postajama bile značajno više od prosječnih. Dijelovi središnje Hrvatske spadaju u kategoriju toplo, a istočna Hrvatska i ostatak središnje

Hrvatske spadaju u kategoriju vrlo toplo. Oborine su u tom periodu na svim postajama, osim u Sisku, bile iznadprosječno visoke te je većina područja središnje Hrvatske okarakterizirana kao kišna.

Jasno je uočljiva razlika u koncentraciji plijesni između vegetacijskih perioda (srpanj 2020. i 2021.) godine te perioda žetve (prosinac 2020.) U vegetacijskom periodu su koncentracije plijesni u uzorcima kukuruza niže nego u uzorcima ječma i pšenice. Navedeno je posebno uočljivo u rezultatima iz srpnja 2020. godine kada uzorci kukuruza sadrže nekoliko desetaka puta manje koncentracije u odnosu na uzorke pšenice i ječma. Gledajući rezultate iz prosinca 2020. godine, situacija je obrnuta te uzorci kukuruza sadrže najveće koncentracije plijesni, a posebno uzorci kukuruza iz sjeverne Hrvatske. Uzorci ječma i pšenice iz sjeverne Hrvatske uzgajani na hranjivoj podlozi DG-18 sadrže najveće koncentracije plijesni, a uzorci ječma i pšenice uzgajani na podlozi DRBC pokazali su da najveće koncentracije plijesni su prisutne u uzorcima iz istočne Hrvatske.

U ovom periodu su uzorci kukuruza sadržali plijesni iz roda *Fusarium* u značajnoj mjeri te je to vjerojatna posljedica klimatskih uvjeta te godine. Naime, idealni uvjeti za rast *Fusariuma* su vlažni i topli, a u ovom periodu je i količina oborina i temperatura zraka bila veća od prosječne (Kotowicz i sur., 2014.). Uz *Fusarium*, uzorci su u velikoj mjeri sadržali plijesni iz roda *Penicillium*. Općenito su uzorci kukuruza iz ovog perioda sadržali znatno veće koncentracije plijesni u odnosu na uzorke ječma i pšenice. *Fusarium* je pronađen u pokojem uzorku ječma i pšenice, ali u manjoj mjeri nego u uzorcima kukuruza. Značajnu prisutnost vrsta *Fusarium* u uzorcima žitarica pokazali su i Kifer i sur. 2021 uspoređujući uzorke žitarica iz dvaju mjesta u Hrvatskoj, jedno mjesto je bilo poplavljeno 2014. godine, a drugo je služilo kao kontrola. Pronašli su metabolite plijesni vrste *Fusarium* u preko 50% uzoraka iz oba mjesta te se ujedno radilo o najčešćim kontaminantima u prikupljenim uzorcima što pokazuje da su mikotoksini vrste *Fusarium* potencijalni veliki toksikološki problem u regijama gdje prevladava umjerena klima. Također, pokazalo se da su koncentracije mikotoksina vrste *Fusarium* znatno veće u odnosu na podatke iz ranije provedenih istraživanja na područjima sa sličnim klimatskim uvjetima što bi moglo biti od velike toksikološke važnosti te posljedica klimatskih promjena. 50% uzoraka kukuruza iz istočne Hrvatske uzgajanih na podlozi DG-18 i 30% uzoraka uzgajanih na podlozi DRBC sadrži plijesni iz roda *Aspergillus*. *Aspergillus* se pojavljuje i u uzorcima ječma iz svih predjela Hrvatske uzgojenim na DG-18 podlozi, a u najvećoj mjeri (70% uzoraka) u uzorcima iz istočne Hrvatske te također u 40% uzoraka iz istočne Hrvatske uzgajanih na podlozi DRBC. Plijesni iz roda *Aspergillus* prisutni su i u manjem broju uzoraka iz istočne

i središnje Hrvatske. Prisutnost plijesni iz roda *Aspergillus* u tako velikoj mjeri u uzorcima iz istočne Hrvatske je zabrinjavajuća jer su njihovi produkti, aflatoksini, dokazani karcinogeni kategorije 1. Plijesnima iz roda *Aspergillus* za rast pogoduje vruća i vlažna klima te predviđeni rast temperatura i učestale oborine mogu dovesti do još veće pojavnosti navedenog roda plijesni u žitaricama. Pleadin i sur. (2014, 2015) su pokazali u svom istraživanju kako su tropski i sutropski klimatski uvjeti u Hrvatskoj 2013. godine doveli do visoke kontaminacije kukuruza plijesnima iz roda *Aspergillus*.

Gledajući kontaminaciju žitarica svaku zasebno, uzorci kukuruza iz prvog vegetacijskog perioda sadrže znatno manje koncentracije plijesni u odnosu na ostala dva perioda, a najveće koncentracije plijesni nalaze se u uzorcima uzetim nakon žetve (podloga DG-18) i iz drugog vegetacijskog perioda (podloga DRBC). Najmanje koncentracije plijesni u uzorcima ječma i pšenice pronađene su u uzorcima uzetim nakon žetve, a u većini slučajeva su najveće koncentracije pronađene u uzorcima iz drugog vegetacijskog perioda (uz iznimku uzoraka iz istočne Hrvatske gdje su koncentracije plijesni uzoraka iz prvog vegetacijskog perioda nešto veće u odnosu na one iz prvog vegetacijskog perioda u oba slučaja).

Promjene u klimatskim uvjetima su neizbježan problem s kojim se moramo naučiti nositi. Konkretno promjene poput porasta temperatura na globalnoj razini, sve češći ekstremi u padalinama (duga sušna razdoblja ili razdoblja s obilnom količinom padalina) te rastuće razine ugljikovog dioksida u atmosferu ostvaruju svoj efekt i na plijesni i njihovu produkciju mikotoksina. Promjena u kvantitativnom i kvalitativnom sastavu plijesni koje se nalaze na žitaricama te njihovoj produkciji mikotoksina je potencijalno velik problem budući da se istim žitaricama koriste i ljudi i životinje u prehrambene svrhe. Navedene promjene predstavljaju ne samo problem iz aspekta zdravlja, nego i iz ekonomskog aspekta. Paterson i Lima (2010) su predvidjeli sve veću pojavnost plijesni iz rodova *Aspergillus* i *Fusarium* što je vidljivo u rezultatima ovog rada.

Kako bismo izbjegli štetu koju će izazvati klimatske promjene, važno je dobro se upoznati s uvjetima koji pogoduju razvoju ključnih mikotoksikotvornih plijesni, u prvom redu plijesni iz roda *Aspergillus*, *Fusarium* i *Penicillium*. Kako bi kontaminacija bila što manja, potrebno je osigurati žitaricama što povoljnije uvjete za rast te provesti odgovarajuće mjere prije početka žetve, uklanjanje nametnika biološkim ili kemijskim metodama te pomno praćenje klimatskih uvjeta. Kako bi se smanjila pojava gljivičnih oboljenja potrebna je primjena dobre gospodarske prakse. (Pleadin i sur 2020.). Osim navedenog, neophodno će biti uvođenje prediktivnih modela

kako bi se moglo predvidjeti koji mikotoksini će biti dominantno prisutni na određenom području kako bi proces uzgoja žitarica bio što efikasniji.

5. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja dolazi se do sljedećih zaključaka:

- Uzorci kukuruza iz srpnja 2020. godine sadrže znatno manje koncentracije plijesni u odnosu na uzorke pšenice i ječma, dok uzorci iz istočne Hrvatske (DG-18) i središnje Hrvatske (DRBC) sadrže najveće koncentracije
- Uzorci kukuruza, pšenice i ječma iz srpnja 2020. godine primarno sadrže plijesni iz roda *Cladosporium* i kvasce, a značajna je i pojava roda *Penicillium*
- Uzorci kukuruza iz prosinca 2020. godine sadrže znatno veće koncentracije plijesni u odnosu na uzorke pšenice i ječma, a posebno uzorci iz sjeverne Hrvatske na obje podloge (283650 CFU/g, podloga DG-18 i 108680 CFU/g podloga DRBC)
- Uzorci kukuruza iz prosinca 2020. u najvećoj mjeri sadrže plijesni iz roda *Fusarium*, *Penicillium* te *Aspergillus* (50% uzoraka iz istočne Hrvatske)
- Plijesni iz roda *Aspergillus* u znatnoj se mjeri pojavljuju uzorcima iz prosinca 2020. godine, a najviše u uzorcima ječma iz istočne Hrvatske uzgajanim na podlozi DG-18 (70% uzoraka), ali i u uzorcima pšenice iz istočne Hrvatske (20% uzoraka)
- Uzorci ječma iz prosinca 2020. uglavnom plijesni iz rodova *Cladosporium* (posebno uzorci iz sjeverne Hrvatske) te kvasci koji su bili prisutni u svim uzorcima iz istočne i središnje Hrvatske te u 60% uzoraka iz sjeverne Hrvatske
- Uzorci pšenice iz prosinca 2020. u najvećoj mjeri sadrže plijesni iz roda *Penicillium* i *Cladosporium*
- Uzorci kukuruza iz 2020. godine sadržali su manje koncentracije plijesni u odnosu na uzorke iz 2021. godine
- Svi uzorci kukuruza iz sjeverne i istočne Hrvatske iz perioda srpnja 2021. uzgajanih na podlozi DG-18 sadrže kvasce i plijesni iz roda *Cladosporium* te su u 20% uzoraka iz sjeverne Hrvatske pronađene vrste roda *Aspergillus*
- Uzorci ječma iz perioda srpnja 2021. godine uglavnom sadrže plijesni iz roda *Cladosporium*, *Penicillium* i kvasce
- Uzorci pšenice iz srpnja 2021. uzgojeni na podlozi DG-18 sadrže *Cladosporium* (80% uzoraka iz sjeverne Hrvatske) te svi uzorci iz istočne i središnje Hrvatske sadrže kvasce, uzorci na podlozi DRBC pokazuju sličnu pojavnost rodova plijesni uz pojavnost plijesni iz rodova *Alternaria* i *Mucor*

- Uzorci kukuruza uzeti nakon žetve sadrže najveće koncentracije plijesni, a uzorci pšenice i ječma koji sadrže najveće koncentracije su uzeti u drugom vegetacijskom periodu

6. LITERATURA

Barkai-Golan R. Mycotoxins in Fruits and Vegetables. Academic Press, 2008, str. 115-151.

Bebber DP, Ramotowski MAT, Gurr SJ. Crop pests and pathogens move polewards in a warming world. *Nature Climate Change*, 2013, 3, 985-988.

Bensch K, Braun U, Groenewald JZ, Crous PW, The Genus *Cladosporium*. *Stud Mycol*, 2012, 72, 1-401.

Bennett JW, Klich M. Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev*. 2003, 16, 497-516.

Bertero A, Moretti A, Spicer LJ, Caloni F. *Fusarium* Molds and Mycotoxins: Potential Species-Specific Effects. *Toxins*, 2018, 10, 244.

Bui-Klimke TR, Wu F. Ochratoxin A and human health risk: A review of the evidence. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2015, 55, 1860-1869.

Bullerman LB. Fungi in Food – An Overview. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (Second Edition), 2003, 5511-5522.

Cvjetković B. Upravljanje rizikom od mikotoksina počinje u polju. *Glasiilo biljne zaštite*, 2014, 14, 317-328.

Duraković S, Duraković L. Mikologija u biotehnologiji. Kugler, Zagreb, 2003.

Fapohunda SO, Adewunmi AA. Climate change and mycotoxins – The African experience. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 2019, 11, 283-290.

Kasprzyk I., Kaszewski BM, Weyszko-Chimielewska E, Nowak M, Sulborska A, Kaczmarek J, Szymanska A, Haratym W, Jedryczka. Warm and dry weather accelerates and elongates *Cladosporium* spore seasons in Poland. *Aerobiologia*, 2016, 32, 109-126.

Kifer D, Sulyok M, Jakššić D, Krska R, Šegvić Klarić M. Fungi and their metabolites in grain from individual households in Croatia. *Food Addit Contam Part B Surveill*, 2021, 14, 98-109.

Kotowicz NK, Frac M, Lipiec J. The importance of Fusarium fungi in wheat cultivation-pathogenicity and mycotoxins production: A review. *J Anim Plant Sci*, 2014, 21, 3326-3343.

Kuvedžić T, Duvnjak M, Tnuwidjaj I, Mrkonjić Fuka M. Prognoza pojavnosti mikotoksikotvornih plijesni na poljoprivrednim kulturama. *Glasilo biljne zaštite*, 2021, 21, 430-442.

Miller JD. Implications for Stored Product Research. *J. stored Prod. Res.* 1995, 31, 1-16.

Oancea S, Stoia S. Mycotoxins: a review of toxicology, analytical methods and health risks. *Acta Univ Cibiniensis Ser E: Food Technol*, 2008, 12, 19-36.

Ocjena mjeseca, sezone, godine. www.meteo.hr, pristupljeno 22.05.2022.

Palfi M, Knežević N, Vrandečić K, Čosić J. Mikotoksini u hrani – zakonodavni okvir. *Glasilo biljne zaštite*, 2020, 20, 472-483.

Paterson RRM, Lima N. Further mycotoxin effects from climate change. *Food Research International*, 2011, 44, 2555-2566.

Paterson RRM, Lima N. How will climate change affect mycotoxins in food? *Food Research International*, 2010, 43, 1902-1914.

Perrone G, Ferrara M, Medina A, Pascale M, Magan N. Toxicogenic Fungi and Mycotoxins in a Climate Change Scenario: Ecology, Genomics, Distribution, Prediction and Prevention of the Risk. *Microorganisms*. 2020, 8, 1496.

Pleadin J, Zadavec M, Lešić T, Frece J, Vasilj V, Markov K. Klimatske promjene – Potencijalna prijetnja još znatnijoj pojavnosti mikotoksina. *Veterinarska Stanica*, 2020, 51, 659-671.

Pleadin J, Vulić A, Perši N, Škrivanko M, Capek B, Cvetnić Ž. Annual and regional variations of aflatoxin B1 levels seen in grains and feed coming from Croatian dairy farms over a 5-year period. *Food Control* , 2015, 47, 221–225.

Pleadin, J, Vulić A, Perši N, Škrivanko M, Capek B, Cvetnić Ž. Aflatoxin B1 occurrence in maize sampled from Croatian farms and feed factories during 2013. *Food control*, 2014, 40, 286-291.

Strategija prilagodbe klimatskim promjenama u Republici Hrvatskoj za razdoblje do 2040. godine s pogledom na 2070. godinu, 2020, Zagreb, Narodne Novine, broj 46 (NN/46/2020)

Sydenham EW, Shephard GS, Thiel PG, Marasas WFO, Stockenstorm S. Fumonisin Contamination of Commercial Corn-Based Human Foodstuffs. *J. Agric. Food Chem*, 1991, 39, 2014-2018.

What Is Climate Change?, www.un.org, pristupljeno 2.2.2022.

7. SAŽETAK/SUMMARY

Utjecaj klimatskih promjena na svakodnevni život jasno je uočljiv. Značajan porast temperatura, sve češće varijacije između ekstremnih količina padalina i sušnih perioda te sve veće koncentracije ugljikovog dioksida u atmosferi ostvaruju efekte na kvantitativni i kvalitativni sastav mikotoksikotvornih plijesni te na njihovu proizvodnju mikotoksina.

Prikupljeni su uzorci kukuruza, ječma i pšenice iz tri predjela Hrvatske u tri vremenska perioda – sjeverna, istočna i središnja Hrvatska u srpnju 2020. i 2021. godine, tijekom vegetacijskog perioda, i u prosincu 2020. godine, u periodu žetve.

Analizom koncentracije plijesni utvrđen je statistički značajan porast srednje vrijednosti koncentracija na uzorcima ječma iz istočne Hrvatske iz srpnja 2020. (103400 CFU/g na podlozi DG-18 te 286600 CFU/g na podlozi DRBC), uzorcima pšenice iz središnje Hrvatske iz srpnja 2021. (520000 CFU/g na podlozi DRBC) i uzorcima kukuruza iz središnje Hrvatske iz srpnja 2021. (394600 CFU/g na podlozi DRBC).

Plijesni koje su dominantno prisutne u uzorcima iz srpnja 2020. godine su kvasci i *Fusarium*, uzorci iz prosinca 2020. godine primarno sadrže plijesni iz rodova *Fusarium*, *Cladosporium*, kvasce, *Aspergillus* i *Penicillium*, a uzorci iz srpnja 2021. u velikoj mjeri sadrže kvasce te plijesni iz rodova *Cladosporium*, i *Penicillium*.

U budućnosti je od presudne važnosti uzeti u obzir utjecaj promjena klimatskih uvjeta na mikotoksikotvorne plijesni koje rastu na žitaricama kako bi efekt istih na zdravlje i ekonomiju bio minimiziran.

SUMMARY

Effects of climate change can be observed in everyday life. Changes in climate such as temperatures rising, occurring variations in precipitation and rising levels of carbon dioxide in Earth's atmosphere can affect qualitative and quantitative composition of mycotoxin producing molds.

Samples of corn, wheat and barley were collected from warehouses in three parts of Croatia - northern, eastern and central in July 2020. and 2021., during the vegetation period, and in December 2020., during harvest. The analysis of mold concentration has shown statistically significant increase in the average concentration on barley from the area of eastern Croatia in July 2020. (103400 CFU/g on DG-18 agar and 286600 CFU/g on DRBC agar), on wheat from the area of central Croatia from July 2021. (520000 CFU/g on DRBC agar) and on corn from the area of central Croatia from July 2021. (394600 CFU/g on DRBC agar).

Samples from July of 2020. mostly contain genera *Fusarium* and yeasts, samples from December of 2020. mostly contain genera *Fusarium*, *Cladosporium*, yeasts, *Aspergillus* and *Penicillium* and samples from July of 2021. mostly contain genera *Cladosporium*, *Penicillium*. And yeasts.

It is of great importance to take the effects of climate change on the production of mycotoxins into consideration in order to avoid health and economic problems.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Zavod za Mikrobiologiju
Shrottova 39/I. kat, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

POJAVNOST PLIJESNI NA ŽITARICAMA U VEGETACIJSKOM PERIODU I NAKON ŽETVE

Ivana Đuras

SAŽETAK

Utjecaj klimatskih promjena na svakodnevni život jasno je uočljiv. Značajan porast temperatura, sve češće varijacije između ekstremnih količina padalina i sušnih perioda te sve veće koncentracije ugljikovog dioksida u atmosferi ostvaruju efekte na kvantitativni i kvalitativni sastav mikotoksikotvornih plijesni te na njihovu proizvodnju mikotoksina. Prikupljeni su uzorci kukuruza, ječma i pšenice iz tri predjela Hrvatske u tri vremenska perioda – sjeverna, istočna i središnja Hrvatska u srpnju 2020. i 2021. godine, tijekom vegetacijskog perioda, i u prosincu 2020. godine, u periodu žetve. Analizom koncentracije plijesni utvrđen je statistički značajan porast srednje vrijednosti koncentracija na uzorcima ječma iz istočne Hrvatske iz srpnja 2020. (103400 CFU/g na podlozi DG-18 te 286600 CFU/g na podlozi DRBC), uzorcima pšenice iz središnje Hrvatske iz srpnja 2021. (520000 CFU/g na podlozi DRBC) i uzorcima kukuruza iz središnje Hrvatske iz srpnja 2021. (394600 CFU/g na podlozi DRBC). Plijesni koje su dominantno prisutne u uzorcima iz srpnja 2020. godine su kvasci i *Fusarium*, uzorci iz prosinca 2020. godine primarno sadrže plijesni iz rodova *Fusarium*, *Cladosporium*, kvasce, *Aspergillus* i *Penicillium*, a uzorci iz srpnja 2021. u velikoj mjeri sadrže kvasce te plijesni iz rodova *Cladosporium*, i *Penicillium*. U budućnosti je od presudne važnosti uzeti u obzir utjecaj promjena klimatskih uvjeta na mikotoksikotvorne plijesni koje rastu na žitaricama kako bi efekt istih na zdravlje i ekonomiju bio minimiziran.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 33 stranice, 3 grafička prikaza, 4 tablice, 27 literaturih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: klimatske promjene, plijesni na žitaricama, mikotoksini, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*

Mentor: **Dr. sc. Maja Šegvić Klarić**, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Maja Šegvić Klarić**, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Dr.sc. Daniela Jakšić, docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Dr.sc. Ana-Marija Domijan, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen:

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Department of Microbiology
Šrottova 39/I. kat, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diploma thesis

OCCURRENCE OF MOULDS ON CROPS DURING VEGETATION PERIOD AND AFTER HARVEST

Ivana Đuras

SUMMARY

Effects of climate change can be observed in everyday life. Changes in climate such as temperatures rising, occurring variations in precipitations and rising levels of carbon dioxide in Earth's atmosphere can affect qualitative and quantitative composition of mycotoxin producing molds. Samples of corn, wheat and barley were collected from warehouses in three parts of Croatia - northern, eastern and central in July 2020. and 2021., during the vegetation period, and in December 2020., during harvest. The analysis of mold concentration has shown statistically significant increase in the average concentration on barley from the area of eastern Croatia in July 2020. (103400 CFU/g on DG-18 agar and 286600 CFU/g on DRBC agar), on wheat from the area of central Croatia from July 2021. (520000 CFU/g on DRBC agar) and on corn from the area of central Croatia from July 2021. (394600 CFU/g on DRBC agar). Samples from July of 2020. mostly contain genera *Fusarium* and yeasts, samples from December of 2020. mostly contain genera *Fusarium*, *Cladosporium*, yeasts, *Aspergillus* and *Penicillium* and samples from July of 2021. mostly contain genera *Cladosporium*, *Penicillium*. And yeasts. It is of great importance to take the effects of climate change on the production of mycotoxins into consideration in order to avoid health and economic problems.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 33 pages, 3 figures, 4 tables, 27 references. Original is in Croatian language.

Keywords: climate change, molds on the cereals, mycotoxins, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*

Mentor: **Maja Šegvić Klarić**, Ph.D., Full Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Maja Šegvić Klarić**, Ph.D., Full Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Daniela Jakšić, Ph.D., Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Ana-Marija Domijan, Ph.D., Full Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: