

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Biologie



Gabriela Wofková

**Ekologické interakce skladištních členovců a patogenů ve skladovaných potravinách,
vedoucí k ohrožení člověka jako koncového spotřebitele**

**The interaction between stored product arthropods and pathogenic microorganisms
causing hazard effect to the consumers**

Bakalářská práce

školitel: Mgr. Jan Hubert Ph.D.

Praha, 2014

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 7.5.2014

Podpis

Poděkování:

Děkuji svému školiteli Mgr. Janu Hubertovi, Ph.D. za vydatnou pomoc a rady, které mi velmi ochotně poskytoval. Rodině a blízkým přátelům děkuji za podporu a pomoc, které se mi dostávalo po celou dobu mého dosavadního studia.

Obsah

Úvod	1
1. Členovci vyskytující se ve skladovaných rostlinných komoditách	3
1.1. Konkrétní druhy členovců	3
1.2. Výskyt skladištních členovců	4
1.3. Horká místa	6
2. Mykotoxin produkující mikroskopické houby	7
2.1. Toxicita mykotoxinů	8
2.2. Rozdělení mykotoxin produkujících hub	8
2.2.1. Aflatoxin	9
2.2.1.1. Výskyt aflatoxinů	9
2.2.1.2. Zdravotní problémy, které aflatoxin činí	10
2.2.1.3. Asociace mikroskopických hub produkujících aflatoxin s členovci	10
2.2.2. Ochratoxin	11
2.2.2.1. Výskyt ochratoxinu	12
2.2.2.2. Zdravotní problémy, které ochratoxin činí	12
2.2.2.3. Asociace mikroskopických hub produkujících ochratoxin s členovci	13
3. Interakce členovců s mikroskopickými houbami	14
3.1. Vzájemné preference skladištních členovců a skladištních mikroskopických hub	15
3.1.1. Mikroskopické houby jako potrava pro členovce	16
3.2. Kairomony	17
3.2.1. Amoniak	17
3.2.2. Guanin	17
3.3. Oboustranné ovlivnění konzumací mikroskopických hub členovci	18
4. Patogenní bakterie	19
4.1. Bakteriální patogeny způsobující přímé zdravotní komplikace	20
4.1.1. Interakce patogenních bakterií způsobujících přímé zdravotní komplikace s členovci	20
4.1.1.1. <i>Salmonella</i>	22
4.1.1.2. <i>Escherchia</i>	22
4.1.1.3. <i>Campylobacter</i>	22
4.1.1.4. <i>Yersinia</i>	23
4.2. Bakteriální patogeny způsobující nepřímé zdravotní komplikace	23
Závěr	26
Seznam literatury:	27

Abstrakt

Ekologické interakce mezi skladištními členovci a patogeny vyústují v poškození skladovaných rostlinných komodit určených ke konzumaci lidmi a hospodářskými zvířaty. Poškození vede ke kvalitativním i ke kvantitativním ztrátám. Patogeny, vyskytujícími se ve skladovaných rostlinných komoditách, jsou mikroskopické houby produkující mykotoxiny a mnoho druhů bakterií. Členovci jsou schopni při spásání mikroskopické houby po skladech roznášet a nekontrolovatelně zvyšovat množství mykotoxinů v potravinách a krmivech. Taktéž dochází k roznosu bakterií, které mají patogenní vliv na člověka a bakterií, které mají schopnost přenášet a předávat si geny pro antibiotickou rezistenci. Práce shrnuje možná ohrožení člověka jako konečného spotřebitele způsobená patogeny a členovci a jejich interakcemi.

Summary

The ecological feeding interaction between *arthropods* and pathogens causes damage of stored plant commodities for human food and animal feed. This damage leads to loss of quality and quantity of stored products. The stored commodities are inhabited by microscopic fungi and various bacteria. These moulds are producing mycotoxins. The bacteria in stored products include human pathogens and also bacteria which are able to transfer the genes of antibiotic resistance. Fungivorous *arthropods* are able to distribute them to the new habitats and indirectly influence mycotoxin contained in stored food. They also disperse some bacteria of pathogenic influence on human or bacteria able to transfer genes of antibiotic resistance in stored plant commodities. The study summarizes possible risk effects of microbial and *arthropods* pest interaction to human.

Klíčová slova

členovci, patogenní bakterie, mykotoxiny, mykotoxiny produkující houby, interakce, skladování, bezpečnost potravin

Key words

Arthropods, pathogenic bacteria, mycotoxin, mycotoxin producing fungi, interaction, storage, food safety

Úvod

Asociace členovců se skladovanými rostlinnými komoditami je historicky velmi dlouhodobá. Prakticky započala s rozvojem zemědělství (Phillips & Throne 2010). Předpokládá se, že předci dnešních synantropních roztočů byli fungivorní a žili v půdě, a až s postupným nástupem neolitické revoluce (usedlejší způsob života, domestikace zvířat, uskladňování obilí) se začali více přizpůsobovat lidským obydlím (Nesvorná et al. 2012) a specifickými procesy se celá řada členovců adaptovala na lidmi skladované potraviny a krmiva. Členovci skladovaných produktů tedy kontaminují jednak rostlinné komodity určené k dlouhodobějšímu uskladnění a používané jako krmivo pro zvířata a jako potraviny určené ke konzumaci lidmi, jednak živočišné výrobky – sýry a sušené maso (Campbell et al. 2004).

Členovci se do skladů s potravinami a krmivy dostávají spolu se smetky nebo přímo při sklizni či úpravě potravin (Stejskal et al. 2003). Řadíme mezi ně zástupce tříd brouků, pisivek, motýlů a roztočů. Ti napadají rostlinné a živočišné produkty v silech, spížích a skladištích. Škodí člověku nejen svojí přímou činností při znehodnocování potravin, která mj. činí v rozvinutých zemích 9–20 % a v rozvojových ještě více, ale má vliv i nepřímý, který se děje při interakci těchto členovců s dalšími patogeny. Ty mohou být zaneseny do prostředí uskladněných potravin, popřípadě jsou dále přenášeny a roznášeny, a stávají se pak původci zdravotních problémů člověka (Phillips & Throne 2010).

Mezi patogeny, které se vyskytují ve skladech s krmivy či potravinami a potenciálně ohrožují člověka, řadíme mikroskopické houby a bakterie. Mikroskopické houby najdeme na mnoha organických substrátech. Tato práce se zaměřuje na mikroskopické houby, které jsou schopné růst na skladovaných rostlinných komoditách, konkrétně na posklizňových obilovinách a vytvářet zde mykotoxiny. Ty se konzumací uskladněných potravin dostávají do potravního cyklu člověka buď cestou přímou, a nebo – při spásání kontaminovaného krmiva hospodářskými zvířaty – cestou nepřímou (konzumací živočišných produktů, např. mléko, maso, vejčeka) mohou ohrožovat člověka na zdraví (Creppy 2002).

Dalším potenciálním patogenem jsou bakterie. Jsou to prakticky nejodolnější organismy světa, a tudíž je najdeme skoro všude. Není proto výjimkou, když se vyskytnou i ve skladech, v nichž jsou uchovávány potraviny a krmiva určené k dlouhodobějšímu uskladnění. V této práci je vyčleněno úzké spektrum bakterií, které může být pro člověka patogenní. Mezi takovéto bakterie se řadí i běžně známé, způsobující u člověka mj. horečky a zejména zažívací problémy (Olsen et al. 2001). Tyto bakterie jsou nalézány na površích členovců, kteří je v rámci svého pohybu po skladech rozšiřují. Druhou potenciální hrozbou jsou bakterie, jež se vyskytují hlavně uvnitř těl členovců. Takovéto bakterie nemají přímý vliv na člověka, ale jsou potenciálními vektory genů antibiotické rezistence, které si mohou s dalšími bakteriemi potencionálně předávat.

Cílem této práce je popsat jednak ekologické interakce členovců s mikroskopickými houbami produkujícími mykotoxiny a interakce členovců s bakteriemi, které mohou vést k ohrožení člověka, popřípadě k ohrožení hospodářských zvířat, jež pak mohou zpětně přenášet problémy spojené s mikroskopickými houbami a bakteriemi na člověka. Konkrétnějšími cíli bylo vymezení a obecné popsání skladištních členovců, vyskytujících se v potravinách a krmivech, vymezení a popsání výskytu skladištních mikroskopických hub s jejich mykotoxiny a patogenních bakterií, jež se ve skladovaných potravinách nachází a interagují s členovci.

1. Členovci vyskytující se ve skladovaných rostlinných komoditách

Po mnoho staletí člověk zdokonaluje proces uskladňování potravin (King et al. 2009). Obilí a jiná semena jsou většinou skladována ve skladech na farmách, v silech. Při nedostatečném zabezpečení proti vlhku a při nedostatečnosti bariér se ovšem mohou do skladů dostávat členovci. Sklady, kde se uskladňují rostlinné produkty, mají povětšinou pro vývoj těchto synantropních členovců nejpříhodnější podmínky. Skladované rostlinné produkty jsou stanovištěm pro řádově desítky druhů členovců (Stejskal & Hubert 2006).

1.1. Konkrétní druhy členovců

Členovci osidlují všechny skladované produkty, řádově se jedná o cca 500 druhů a existuje zde celá řada potravních vztahů. Členovci napadající uskladněné potraviny mohou být pro člověka škůdci, tedy herbivoři, nalézají se tu ale i fungivoři, paraziti a predátoři. Dále se zde vyskytují členovci, přenesení do obilí při sklizni. Právě tento hmyz může být též zdrojem fyzické kontaminace tejskal & Hubert 2006). Ale ačkoliv se ve skladech obilí může vyskytovat takto velké množství druhů členovců, dominantních druhů, které zde běžně nalézáme, je velmi málo. Nejčastějšími jsou:

Roztoči, Acari:

Acarus siro, Linnaeus, 1758, roztoč moučný

Aleuroglyphus ovatus, (Tropéau, 1879)

Carpoglyphus lactis, (Linnaeus, 1758), roztoč mléčný

Cheyletus eruditus, Schrank, 1781, roztoč dravý

Lepidoglyphus destructor, (Schrank, 1781), roztoč ničivý

Rhizoglyphus robini, Claparede, 1869, roztoč kořenový

Tyrophagus putrescentiae, (Schrank, 1781), roztoč zhoubný

Brouci, Coleoptera:

Alphitobius diaperinus, Panzer, 1796, potěmnik stájový

Oryzaephilus surinamensis, Linnaeus, 1758, lesák skladištní

Rhizoptera dominica, (Fabricius, 1792), korovník obilní

Sitophilus granarius, (Linnaeus, 1758), pilous černý

Sitophilus oryzae, (Linnaeus, 1763), pilous rýžový

Sitophilus zeamays, Motschulsky, 1855, pilous kukuřičný

Tribolium castaneum, (Herbst, 1797), potěmnik hnědý

Tribolium confusum, Duval, 1868, potěmnik skladištní

Tribolium destructor, Uyttenboogaart, 1933, potěmnik ničivý

Trogoderma granarium, Everts, 1898, rušník obilní

Pisivky, Psocoptera:

Lachesilla pedicularia, (Linnaeus, 1758), pisivka obecná

Lepinotus patruelis, Pearman, 1931, pisivka hnědá

Liposcelis bostrychophila, Badonnel, 1931, pisivka domácí

Liposcelis decolor, Pearman, 1925, pisivka světlá

Liposcelis entomophila, (Enderlein, 1907), pisivka obilní

Motýli, Lepidoptera:

Ephestia elutella, Hübner, 1796, zavíječ skladištní

Ephestia kuehniella, Zeller, 1879, zavíječ moučný

Plodia interpunctella, Hübner, 1810, zavíječ paprikový

Sitotroga cerealella, (Olivier, 1789), makadlovka obilná

(Obrázky členovců jsou k nahlédnutí v příloze č. 1, skupina I.-IV.).

Mezi synantropní členovce znehodnocující potraviny běžně zařazujeme i řád švábi (*Blattodea*) a řád šupinušky (*Zygentoma*), ty ale nejsou předmětem této rešeršní práce z důvodu jiných nároků na habitat. Šváby a šupinušky se vyskytují spíše v lidských obydlích a domácích spížích, než ve skladovaných rostlinných produktech (Bell et al. 2007; Zettel 2010). Řád pisivky (*Psocoptera*) je znám svým výskytem ve skladovaném zrní a obilně-procesních zařízeních, ale ačkoliv jsou již velmi dlouho popsány, až do roku 2000 nebyly v rozvinutých zemích považovány za škůdce (Phillips & Throne 2010). Ačkoliv se ekologické a biologické nároky pisivek stále intenzivně studují (Kučerová 2002), není k dispozici dostatek informací o jejich potravní biologii a interakcích s mikroorganismy. Proto se v této práci podrobněji zaměřím pouze na řády brouků, roztočů a motýlů.

1.2. Výskyt skladištních členovců

Ve skladovaných rostlinných produktech mají brouci schopnost pronikat dovnitř do masy obilovin, kdežto roztoči se vyskytují pouze na povrchu (Athanassiou et al. 2005). Motýli, z nichž najdeme v obilovinách pouze zavíječe, se nacházejí také pouze na površích. Jiné je to s larvami, ty se obvykle mohou dostávat i pod povrch skladovaných rostlinných komodit. Čím dále jsou členovci schopni se dostávat, tím více škod páchají nejen svojí činností, ale i diseminací mikroorganismů (Kendrick 1985). Geografický výskyt členovců napadajících uskladněné rostlinné produkty je prakticky kosmopolitní, avšak množství a aktivita vždy záleží na geografických a klimatických

podmínkách (Sinha & Sinha 1990). Kromě toho, že tito členovci, kteří jsou nalézáni nejčastěji právě v uskladněných rostlinných produktech používaných jako krmivo či potraviny, prokazatelně zvyšují kvantitativní i kvalitativní ztráty (Phillips & Throne 2010), budou i, jak lze předpokládat, interagovat s mikroskopickými houbami, jež mohou potenciálně produkovat mykotoxiny.

Rezervoárem škůdců v uskladněných obilovinách bývají často smetky (Kučerová et al. 2003), příklad toho, jak vypadají, můžeme vidět na obrázku 1. Je to směs rozsypaných rozlámaných i celých obilek, zeminy, prachu z obilovin a z prostředí, popřípadě semen plevelu. Vyskytují se buď na okrajích a v rozích sil, nebo u strojů jako zbytky. Smetky slouží jako rezervoár hlavně v době, kdy už je obilovina ze skladu a sil odvezena a nová ještě není přivezena. Pro členovce bývají dobře dostupné a obvykle je v nich i vyšší vlhkost než v mase zrní.

Skladištním škůdcům mimo smetků v silech a skladech svědčí i již zmíněná vyšší vlhkost prostředí. Většina plodin bývá uložena k dlouhodobějšímu uskladnění s vlhkostí nižší než 14.5 %, ale některé roky je kvůli vlhkému počasí obsah vody v zrní vyšší, a to může způsobovat zemědělcům problémy v podobě nárůstu populací členovců (Anonym 2003).



Obrázek 1: Smetky zrní ve skladu.

Jsou to části obilek, prachu atd., kde se vyskytují skladištní členovci v době, kdy jsou zásoby zrní ze skladů odvezeny. Smetky tvoří rezervoáry, z nichž potom skladištní členovci vylézají a kolonizují nové zásoby.

Foto: R. Aulický

1.3. Horká místa

Povrch zrní vystavený teplotám pod bod mrazu zhruba na 3-5 zimních měsíců má za následek kondenzaci vlhkosti na povrchu masy zrní zapříčiněnou konvenčními proudy uvnitř (Sinha & Wallace 1966). Horká místa se často objevují právě v průběhu roků, v nichž je počasí často deštivé a obilí před uskladněním nestihne vyschnout a je sklizeno vlhké (Sinha et al. 1979). Vlhké "zrnné vaky" jsou taktéž vytvářené i deštěm prosakujícím střechou. Tyto podmínky, které jsou mj. důležité pro vývoj skladištních členovců a mikroskopických hub (Sinha & Wallace 1966), zpravidla velmi často spolu s interakcí těchto organismů přispívají k vytváření horkých míst ve skladované pšenici, žitu a ječmeni v sýpkách, skladech a silech, v průběhu času od konce podzimu, zimy a časného jara (Sinha & Wallace 1966).



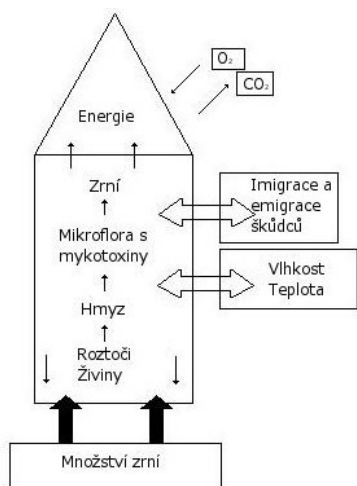
Obrázek 2: "Spečené zrní"

Zvýšení vlhkosti ve skladech má za následek zvýšení populací členovců i mikroskopických hub, kteří spolu interagují. To vytváří lokálně zvýšenou teplotu a zrna se mohou spéci. Na obrázku je patrné i klíčení zrn, které je způsobeno danou vlhkostí a teplotou.

Foto: V. Stejskal

Horká místa se vyznačují na první pohled "zrním spečeným dohromady", jak můžeme vidět na obrázku 2. Zahřívání vyvolané metabolickou aktivitou členovců a hub má za následek zhoršení kvality zrní, opalování semen, redukci klíčení a optimálnější podmínky pro rychlý růst mikroskopických hub a skladištních členovců (Sinha & Wallace 1966).

Popis prostředí skladovaného obilí v sile znázorňuje schéma na obrázku 3. V silech, se pomocí specifických chemických látek (kairomonů), shlukují roztoči a na místech s výhodnými podmínkami pro vývoj populace se pak rozmnožují. Mezi výhodné podmínky se řadí optimální teplota a vlhkost, dostatek vzduchu a samozřejmě dostatečný a co nejvíce vyvážený přísun správných živin. Stejně nároky na podmínky, jaké mají roztoči, ale mají i mikroskopické houby.



Obrázek 3: Schéma síla

Při dostatečném množství živin, začnou narůstat populace roztočů a dalšího hmyzu. Ti pak interagují s houbovou mikroflorou a zvýší se v zrní množství mykotoxinů. Se zvyšující se imigrací skladištních členovců a zvyšováním jejich populací koreluje i zvýšená vlhkost a teplota. A při vhodných podmínkách začne klíčit i zrní. Interakce má za následek lokální zvýšení energie, jež může vyústit v horká místa.

Převzato od Magan et al. 2003

Shrneme-li výskyt a interakce členovců, tedy brouků, roztočů a zavíječů, pro které jsou přirozeným habitatem skladované rostlinné komodity, mohou během procesu uskladnění interagovat s jinými mikroorganismy. Důsledkem interakcí je zejména diseminace spor mikroskopických hub po skladovaných rostlinných produktech a při zvýšené vlhkosti prostředí i tzv. horká místa.

2. Mykotoxin produkující mikroskopické houby

Mykotoxiny jsou obecně toxické sekundární metabolity produkované zástupci říše hub, konkrétněji zejména myceliálními strukturami filamentózních hub, neoborně nazývanými „plísňe“ (Hussein & Brasel 2001). Ačkoliv část studií uvádí, že nemají žádný biochemický význam v růstu či rozvoji oněch hub, které je produkují (Moss 1991 In Hussein & Brasel 2001), další studie ukazují, že by mykotoxiny, produkované mikroskopickými houbami, které se běžně vyskytují v prostředí spolu s fungivorními členovci, mohly sloužit jako jakýsi chemický štít, který by fungoval jako obrana proti nadměrnému spásání fungivorními členovci (Trienens & Rohlf 2011). Mykotoxin produkující mikroskopické houby se velmi často nacházejí v potravinách a krmivech, kde dokážou poměrně rychle kolonizovat jakékoliv rostlinné komodity a svojí přítomností je znehodnocovat. Ačkoliv těmto houbám svědčí vyšší teploty a vlhkost, někteří producenti mykotoxinů se vyskytují celosvětově, i v sušších a chladnějších místech a zdraví lidí mohou ohrožovat prakticky kdekoli (Magan 2006)

2.1. Toxicita mykotoxinů

Dříve se mykotoxiny využívaly například v čínském léčitelství, v Egyptě a dalších zemích. Jejich účinek byl však lépe poznán až v roce 1961 v Anglii (Richard, 2007). Tehdy byl řádně popsán aflatoxin po úbytku velkého množství hospodářských zvířat, když do krmiva hospodářských zvířat byly zahrnuty i burské ořechy. Ty byly zřejmě napadené mikroskopickou houbou, která aflatoxin produkovala (Richard 2007). Toxicita mykotoxinů je velký problém i dnešní společnosti. Zdravotní následky po požití mykotoxinů nejsou zaznamenány jen u zvířat, ale i u lidí. Nejvíce diagnóz mykotoxikóz (onemocnění způsobených mykotoxiny) je po požití mykotoxiny kontaminovaných uskladněných rostlinných produktů. Diagnóza mykotoxikózy je však jen těžko prokazatelná – kvůli podobnosti příznaků nemoci s dalšími nemocemi způsobenými jinými agens (Richard 2007).

2.2. Rozdělení mykotoxin produkujících hub

Mikroskopické houby tvoří mykotoxin až po ukončení růstové fáze. K vyklíčení spory, vytvoření mycelia a sporulaci je potřeba několik dnů a teprve po nich dochází k produkci mykotoxinů (Magan & Olsen 2004). Některý druh mikroskopické houby dokáže produkovat mnoho rozdílných druhů mykotoxinů a zároveň je jeden typ mykotoxinu produkován více jak jedním druhem hub (Magan & Olsen 2004). Z hlediska místa, kde se mykotoxiny dostávají do skladovaných rostlinných komodit, existuje napadení houbami, jež kontaminují obilniny již na poli a v průběhu vegetačního období, tedy mikroskopické houby předsklizňové. Další druhy hub rostou během skladování a produkují mykotoxiny v tomto období, tj. vytvářejí kontaminace posklizňové. Mezi hlavní kmeny předsklizňových hub patří *Fusarium* a *Alternaria*. Ty také produkují svoje mykotoxiny, převážně tvořené během vegetačního období, kterými jsou například DON (vomitoxin), T2 toxin, HT2 toxin, zearalenon, nivalenol, diacetoxyscirpenol, fusarenon (Salas et al. 1999; Bakan et al. 2002; Bottalico & Perrone 2002; Richard 2007; Bernhoft et al. 2010).

Mikroskopické houby, které kontaminují plodiny ve skladech, silech či sýpkách při nesprávném uskladnění (vysoká vlhkost, kolísání teploty den/noc, kondenzace vody v silu...), se nazývají posklizňové či skladové mikroskopické houby. Řadíme mezi ně hlavně druhy *Penicillium* a *Aspergillus*. Během skladování tvoří mykotoxiny ochratoxiny (hlavně typu A) a aflatoxiny.

S přihlédnutím k tématu ekologických interakcí skladových mikroskopických hub se skladovými členovci se tato práce zaměřuje hlavně na houby a jejich mykotoxiny, které mohou závažným způsobem ovlivňovat zdraví člověka a hospodářských zvířat. Vzhledem k interakcím člověka a skladištních členovců s mikroskopickými houbami jsou zde uvedeny dva základní typy nejběžnějších mykotoxinů vyskytujících se ve skladovaných potravinách a krmivech. Jsou jimi aflatoxin a ochratoxin.

2.2.1. Aflatoxin

Aflatoxiny jsou běžně se vyskytujícími mykotoxiny. Jsou produkovány mnoha druhy mikroskopických skladištních hub *Aspergillus*, hlavně známými *A. flavus* a *A. parasiticus*. Zejména *A. flavus* je běžný kontaminant nalézáný v zemědělství. *A. bombycis*, *A. ochraceoroseus*, *A. nomius* a *A. pseudotamari* jsou taktéž aflatoxin produkující druhy, ale nejsou nalézány zdaleka tak často (Hussein & Brasel 2001; Peterson et al. 2001).

Termín aflatoxin zastřešuje čtyři rozdílné typy mykotoxinů: B₁, B₂, G₁, G₂. Toto rozčlenění je založeno na jejich fluorescenci pod UV světlem (modré nebo zelené) a na relativní chromatografické mobilitě v průběhu tenkovrstvé chromatografie (Zain 2011). Rozlišuje se tedy aflatoxin:

- B₁ – produkován *A. flavus* a *A. parasiticus*
- B₂ – produkován *A. flavus* a *A. parasiticus*
- G₁ – produkován *A. parasiticus*
- G₂ – produkován *A. parasiticus*.

Aflatoxin B₁ je v přírodě potenciálně největším známým karcinogenem. Jedná se o běžný a hlavní aflatoxin produkováný toxickým kmenem (Creppy 2002). Avšak koncentrace B₁ aflatoxinu v potravě a krmivech může být kontrolována a redukována pomocí zdokonalených výrobních a skladovacích praktik (Creppy 2002).

Kromě samotných typů mykotoxinů, které jsou pro lidi skrytě dostupné v semenech, obilninách a sušených rostlinách, se můžeme setkat ještě s různými metabolity mykotoxinu, a to například v mléčných produktech; ty mohou taktéž poskytovat neřízený zdroj aflatoxinu. Když, dejme tomu, krávy konzumují aflatoxinem kontaminovanou potravu, metabolicky pak transformují aflatoxin B₁ do hydroxylované formy nazývané aflatoxin M₁ (Galvano et al. 1996). Avšak toxicita aflatoxinu M₁ je menší než toxicita aflatoxinu B₁ (Creppy 2002). Kromě metabolitu M₁ se v mléce ještě vyskytují metabolity M₂ a M₄ (Bernhoft et al. 2013)

2.2.1.1. Výskyt aflatoxinů

Aflatoxin je v přírodě široce rozšířen. Ačkoliv rod *Aspergillus* kolonizuje a kontaminuje skoro všechny organické substráty, obecně přirozeným stanovištěm mikroskopických hub produkujících aflatoxiny je půda, hnilý vegetace, seno a obiloviny, které jsou už většinou napadeny mikrobiální aktivitou či aktivitou členovců. Potenciálním ohrožením člověka mohou být aflatoxiny vyskytující se v zrní na polích i v průběhu skladování. Druhy obilovin, které rod *Aspergillus* hostí, jsou většinou náchylnější k jeho napadení a rozvoji na hostiteli kvůli delšímu vystavení vysoké vlhkosti půdy nebo poškození rostlin stresovými podmínkami, které snižují přirozeně vytvořenou bariéru, jež chrání

rostliny před napadením. K příznivým podmínkám pro jejich růst kromě toho patří vyšší vlhkost (více jak 7 %) a vyšší teploty, ideálně 25 °C (Anonym 2011). Největší problémy činí *Aspergillus* a jeho sekundární metabolit aflatoxin v tropickém pásmu, nicméně obtíže s jeho výskytem jsou zaznamenávány i v našich zeměpisných šířkách.

V souvislosti s podstatou ohrožení člověka je práce zaměřena zejména na potravu a krmiva - hlavně obiloviny a další rostlinné produkty, které mohou být napadeny. Rod *Aspergillus* často znehodnocuje obiloviny (čirok, kukuřice, proso, rýže, pšenice), olejová semena (oříšky, sójové fazolky, slunečnicová semínka, bavlna), pálivé koření (chilli papričky, černý pepř, koriandr, zázvor) a ořechy (mandle, pistácie, vlašské ořechy, kokosové ořechy). Sekundárně se aflatoxin dostává taktéž do potravního cyklu člověka přes hospodářská zvířata. Kromě již zmíněného kravského mléka tvoří další místo výskytu maso prasat či slepičí vejce, jestliže těmto hospodářským zvířatům bylo podáno určité prahové množství aflatoxinu do krmení (Richard 2007).

Bylo experimentálně dokázáno, že například vařením a opékáním obilí a klasů kukuřic se významně snižoval obsah aflatoxinu v kukuřici (Hale & Wilson 1979). Ve výzkumu prováděném Deveci (2006) bylo ukázáno, že pasterizace mléka může částečně snížit množství AFM₁. Nicméně mnoho dalších publikací ukazuje, že aflatoxiny jsou při tepelném ošetření, jako je pasterizace a sterilizace, stabilní (Govaris et al. 2001). Kolísání v údajích uvedených v různých publikacích lze přičíst širokému rozsahu teplot, různým analytickým metodám (Mohammadi 2001). Každopádně s přihlédnutím k tomu, že mléko konzumují mladí, dospělí i staří lidé, existuje riziko ohrožení člověka jako konečného spotřebitele.

2.2.1.2. Zdravotní problémy, které aflatoxin činí

Náchylnost obratlovců k aflatoxikóze závisí na mnoha faktorech, jako jsou věk, druh, doba expozice, nutriční status organismu a mnoho jiných. Avšak aflatoxiny ovlivňují zdraví zvířat i lidí (Miller 1995). Aflatoxinové metabolity se mohou vmezeřovat do DNA a vytvářet báze (Bernhoft et al. 2013), a to může vést k hepatocelulárnímu karcinomu.

U hospodářských zvířat můžeme pozorovat snížení živočišné produkce (mléka, vajec, úbytek váhy atd.) a taktéž imunosupresivní, karcinogenní, teratogenní a mutagenní následky (Miller & Wilson 1994).

2.2.1.3. Asociace mikroskopických hub produkujících aflatoxin s členovci

Aflatoxiny dokážou snížit kvalitu života nejen zvířatům, a tím zapříčinit získávání menších hospodářských živočišných výnosů, ale i lidem. K odstranění mikroskopických hub produkujících aflatoxiny nestačí jen úprava podmínek skladování, ale je nutné taktéž vymýcení hmyzu, který s rodem *Aspergillus* interaguje. Z dosavadních studií vyplývá, že členovci mohou při svém pohybu po

skladech roznášet mikroskopické houby či jejich části, a tím přispívat k jejich diseminaci a zvýšené infekci skladovaných rostlinných produktů (Hell et al. 2000; Hubert et al. 2003).

Nejčastěji se vyskytující *Aspergillus flavus* je běžným kontaminantem obilnin a dalších skladovaných rostlinných produktů. Na polích i ve skladovaných rostlinných produktech ho ve svém traktu i na povrchu roznáší členovci (McMillian 1987). Například spory rodu *Aspergillus* byly izolovány z těl běžně se ve skladovaných potravinách vyskytujícího pilouse *Sitophilus zeamays* (McMillian 1987).

Výskyt druhu *Aspergillus flavus*, stejně tak jako výskyt aflatoxinu, byl vyšší u hmyzem poškozených vzorků kukuřice než u nepoškozených (Sinha & Sinha 1991). To potvrzuje i studie, ve které byl prokázán vyšší výskyt aflatoxinu v kukuřičných klasech infestovaných *Sitophilus zeamays*, než u oněch neinfestovaných (Beti et al. 1995). Jako kontrolní studie může posloužit studie, jejímž výsledkem bylo, že signifikantně více aflatoxinu B1 bylo nalezeno v kukuřici infestované pilousem *S. zeamays*, než v kontrolním - mechanicky poškozeném vzorku kukuřice, který byl naočkován *A. flavus* (Beti et al. 1995). Infestace obilí hmyzem má za následek přerušení ochrany obilky, perikarpu. Členovci vytváří zrní více zranitelné k invazi skladovými mikroskopickými houbami, které mj. zahrnují i *A. flavus* (Barry et al. 1992). Taktéž metabolická aktivita hmyzu má za následek zvýšení relativní humidity, poskytující příznivé podmínky pro růst *A. flavus* (Mills 1983).

Shrneme-li výskyt aflatoxinů, ve skladovaných rostlinných komoditách se vyskytují mikroskopické houby rodu *Aspergillus*. Některé druhy tohoto rodu jsou asociovány se skladištními členovci, jak je uvedeno v tabulce 1. Experimentálně bylo dokázáno, že členovci mohou nepřímo ovlivňovat výskyt aflatoxinu, a tím jsou potenciálně velmi nežádoucími při zachování kvality a kvantity rostlinných komodit.

2.2.2 Ochratoxin

Ochratoxin je další sekundární metabolit produkovaný skladištními mikroskopickými houbami. Je běžný kontaminantem rostlinných komodit (Richard 2007; Trucksess & Scott 2008), Až na pár výjimek, kdy se mikroskopické houby produkující ochratoxin vyskytují na plodinách ještě před uskladněním (Richard 2007), osidlují skladované rostlinné produkty, kde mají příhodné podmínky pro vývoj.

Ochratoxin se dělí se na více typů:

- Ochratoxin A (OTA)
- Ochratoxin B (OTB) - nechlórovaná forma ochratoxinu A
- Ochratoxin C (OTC) - ethyl-ester ochratoxinu A.

Ochratoxin typu A je produkovaný druhy *Penicillium ochraceus* a *Aspergillus ochraceus* a malým procentem *Aspergillus niger* (Creppy 2002; Magan 2006). Tyto tři skupiny druhů se liší ve svých nárocích na ekologickou niku, v komoditách zasažených výskytem a ve frekvenci výskytu - kvůli rozdílným geografickým podmínkám (Creppy 2002).

2.2.2.1 Výskyt ochratoxinu

Obecně má rod *Penicillium* nároky na cca 17% vlhkost obilí a teplotu okolo 23 °C. Kromě rodu *Penicillium* je částečným producentem ochratoxinu i rod *Aspergillus* (Vega et al. 2006). Ten má průměrné nároky okolo 12% vlhkosti obilí a teplotu okolo 27 °C (Anonym 2011).

Avšak jednotlivé nároky různých druhů se liší. *Penicillium Verrucosum* je nacházen pouze v chladnějších územích, kde se dostává do obilovin a tím se stává se hlavním zdrojem ochratoxinu A v obilovinách v Kanadě a Evropě (Creppy 2002). A problém ohrožení člověka je nasnadě, protože obiloviny jsou v Evropě široce rozšířené jako krmivo pro hospodářská zvířata a ochratoxin A se může taktéž prostřednictvím zvířecích produktů dostávat do lidské potravy (Creppy 2002).

Aspergillus ochraceus byl dále nalezen jako kontaminant piva. Ochratoxiny byly také objeveny na vinné révě a v nápojích z vinné révy (víno a džusy). Producent ochratoxinu byl nalezen rovněž v rostlinách (ženšen, zázvor, lékořice, kurkuma a pepřovník opojný), a to i v některých evropských zemích (Trucksess & Scott 2008). V Severní Evropě je ochratoxin A částečně problémem obilovin v posklizňovém substrátu, a to zejména tam, kde jsou vlhčí a chladnější podmínky a neefektivní sušení (Magan & Aldred 2007).

Prevence mikroskopických hub produkujících ochratoxiny se skládá ze standardních metod pro soustavu opatření růstu dalších mikroskopických hub skladovaných komodit, zejména udržení zrní v suchu. Speciálně v tropických a subtropických regionech, kde dochází poškození hmyzem, je nutné utěsnění skladů a kontrola vnitřní atmosféry, jinak nastává problém infestace (Campbell et al. 2004).

2.2.2.2. Zdravotní problémy, které ochratoxin činí

Ochratoxin A je absorbován v gastrointestinálním traktu a u mnoha druhů zvířat se distribuuje prostřednictvím krve, hlavně do ledvin, malé koncentrace byly nalezeny i v játrech, svalech a tuku (Creppy 2002). Přenos ochratoxinu přes metabolismus těla do mléka byl demonstrován u krys, králíků a lidí (Creppy 2002). Oproti aflatoxinu je ale ochratoxin do mléka přežvýkavců přenášen pouze v malém množství. S pomocí mikroflóry a metabolismu bachoru je velká část ochratoxinu A zredukována a do mléka předávána jen v malém množství (Creppy 2002).

Ochratoxin je toxin, působící primárně na ledviny, ale jeho dostatečně velké koncentrace mohou poškodit i játra. Pro krysy a myši je karcinogenní. Je podezření, že je původcem lidského onemocnění - balkánské endemické nefropatie. Balkánská endemická nefropatie je ledvinné onemocnění velmi často asociované s nádory. V krevních vzorcích získaných od lidí žijících v

regionech, kde se vyskytuje ledvinné onemocnění, byl ochratoxin A více frekventovaný a ve vyšší koncentraci (Creppy 2002). Nejvýznamnější koncentrace ochratoxinu v krvi se objevovaly v zemích s chladným podnebím severní polokoule (Creppy 2002). Ve vzorcích od lidí, žijících v evropských zemích bylo nalezeno nízké množství ochratoxinu, avšak onemocnění pozorováno nebylo.

2.2.2.3. Asociace mikroskopických hub produkujících ochratoxin s členovci

Experimentálně zjištěných případů asociace mikroskopických hub produkujících ochratoxiny s členovci je oproti asociacím s aflatoxiny velmi málo. V našich podmínkách přenášejí roztoči mikroskopické skladištní houby, které mohou produkovat ochratoxin A, zejména *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium verucosum* (Hubert et al. 2004). Další případ je znám pouze z prostředí kávy, kde členovci, konkrétně *Prorops nasuta* (*Hymenoptera*: Bethylidae, obrázek k nahlédnutí v příloze č. 1, skupina V.), přenáší a diseminují houby *Aspergillus westerdijkiae* produkující ochratoxin A (Vega et al. 2006).

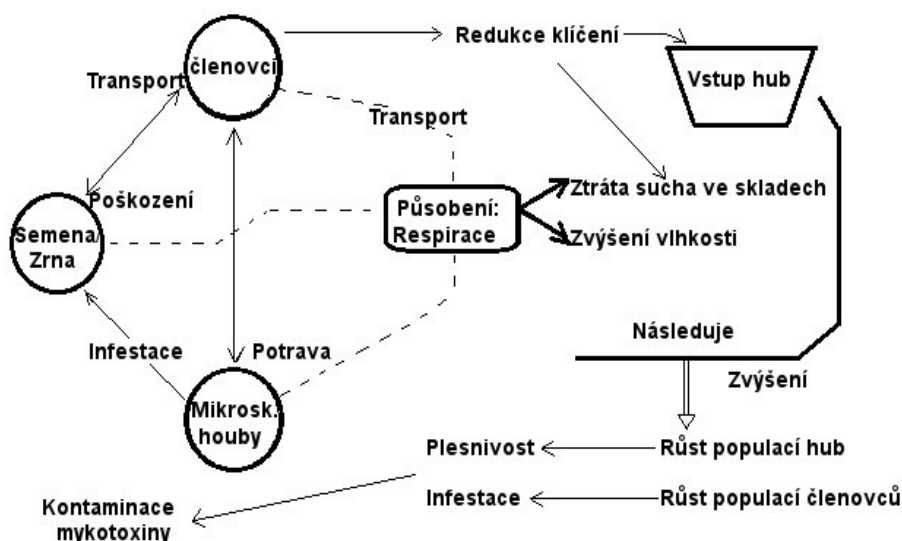
Shrneme-li výskyt ochratoxinů, ve skladovaných rostlinných komoditách se vyskytují mikroskopické houby, které je mohou produkovat. Avšak skladištní členovci jsou s těmito houbami asociováni méně než v předchozím případě s aflatoxiny. Výskyt ve skladovaných komoditách, vliv na člověka a další údaje jsou shrnuty v tabulce č.1.

Tabulka 1: Souhrn asociací konkrétních skladištních členovců s konkrétními mikroskopickými houbami, které dokážou produkovat mykotoxiny, jež mohou mít zdravotní vliv na člověka.

Posklizňový typ mykotoxinu	Aflatoxin	Ochratoxin
Mikroskopické houby produkující daný mykotoxin	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>A. bombycis</i> , <i>A. ochraceoroseus</i> , <i>A. nomius</i> , <i>A. pseudotamari</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. westerdijkiae</i> , <i>Penicillium ochraceum</i> , <i>P. verrucosum</i> ,
Podtypy mykotoxinu / jejich toxicita	10 typů, B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ , M ₂ , M ₄ / B a G nejtoxičtější	A, B, C/ A nejtoxičtější
Ohrožení člověka mykotoxiny	hepatotoxický, karcinogenní, možné mutace v genu P53	hepatotoxický, nefrotoxický, možné zesílení karcinogenity ostatních mykotoxinů, ledvinné onemocnění (známé jako balkánská endemická nefropatie), postihnutí dělení DNA
Asociace s členovci (potrava, transport)	<i>Sitophilus zeamays</i> , <i>Tribolium castaneum</i> , <i>Carpophilus lugubris</i>	<i>Prorops nasuta</i>
Nejčastěji napadené rostlinné komodity	obiloviny, olejová semena, pálivé rostlinné produkty, ořechy, sekundárně živočišné produkty	skladované obiloviny, vinná réva, ženšen, zázvor, kurkuma, sekundárně živočišné produkty

3. Interakce členovců s mikroskopickými houbami

Asociace členovců s mikroskopickými houbami jsou dlouhodobé. Členovci skladovaných produktů, kteří proniknou do prostředí, kde se vyskytují mikroskopické skladištní houby, a v těchto prostředích pak žijí, s přítomnými houbami sdílejí rozmanitou koevoluční historii (Rohlf & Churchill 2011). Obecné vztahy členovců a mikroskopických hub, které mají mimo jiné vliv na skladované rostlinné komodity, jsou částečně zobrazeny na obrázku č. 4.



Obrázek 4: Schéma interakcí mikroskopických hub a členovců ve skladovaných rostlinných komoditách. Mikroskopické houby jsou pro členovce potravou a členovci jsou pro ně důležití zejména protože jim poskytují transport a usnadňují jim svoji činností infestaci obilí. Obě skupiny znehodnocují skladované rostlinné komodity a zvyšují ve skladech vlhkost, která je zejména velmi důležitá pro růst populací hub, které mohou produkovat mykotoxiny. Výsledkem je kromě jiného kontaminace skladovaných rostlinných komodit mykotoxiny.

Převzato ze Sinha & Sinha 1991

3.1. Vzájemné preference skladištních členovců a skladištních mikroskopických hub

Zřejmě největším vzájemným ovlivněním pro obě skupiny je, že pro sebe navzájem mohou tvořit potravu. Zatímco mikroskopické houby do této interakce zapojují mykotoxiny a následně z mrtvých těl členovců získávají živinný profit v podobě dusíku, členovci mohou spásat mikroskopické houby prakticky bez omezení. Fungivorie členovců ovlivňuje pozitivní výskyt hub a mykotoxinů v obilovinách a dalších skladovaných produktech. Ancestrální členovci byli pravděpodobně taktéž fungivorní (Conor 1979 In Adler et al. 2002).

Fungivorie je vztah zahrnující striktně houby a fungivorní členovce. Je odvislý z členovců a hub, kteří pro sebe fungují jako zdroji potravy (Guevara et al. 2000). Pro tuto práci je to vymezený proces, kdy určité druhy roztočů a brouků, primárně se vyskytujících ve skladovaných produktech spásají skladištní mikroskopické houby (Sinha & Mills 1968).

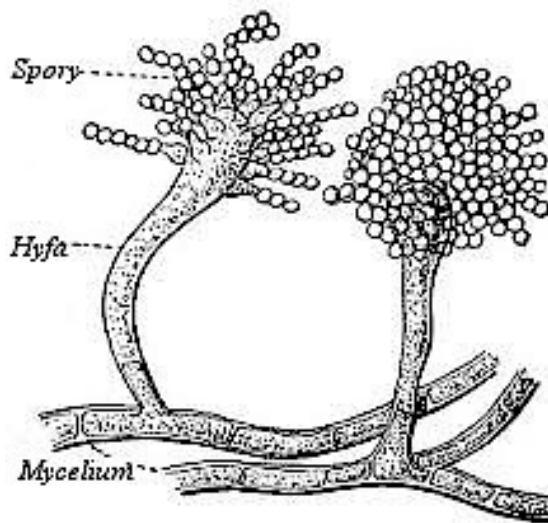
3.1.1. Mikroskopické houby jako potrava pro členovce

Houby, *Fungi* jsou stélkaté organismy s heterotrofní výživou. Jejich tělo tvoří, jak můžeme vidět na obrázku 5, tři základní součásti - mycelium, hyfy a spory. Jejich stěna se skládá zejména z chitinu (Adler et al. 2002). Zásobními látkami, které jsou pro vláknité houby důležité, je zejména glykogen a trehalóza (Adler et al. 2002; Gancedo & Flores 2004; Simon et al. 2008)

Pokud mají být populace členovců schopné na mikroskopických houbách růst, musí z nich umět přijímat energii. Hlavním produktem hub, ze kterého roztoči energii využívají, je trehalóza. Ke stravení tohoto disacharidu jim pomáhá enzym trehaláza, který je v jejich těle syntetizován (Siepel & Ruiter-Dijkman 1993).

Trehaláza je trávicí enzym, který má klíčovou roli v trávení obsahu buněk hub. Členovcům při spásání mycelia projde skrz trávicí trakt buněčná stěna složená z chitinu, jež běžně zůstává nestrávena (Hubert et al. 2001) a členovec stráví pouze obsah buňky (Hubert et al. 2001), který je bohatý na trehalózu. Toto ukazuje na klíčovou roli enzymu trehalázy při trávení hub a využívání jejich zdrojů (Siepel & Ruiter-Dijkman 1993). Nejvyšší trehalázová aktivita, ze tří zkoumaných roztočů, byla zjištěna z roztoče *Tyrophagus putrescentiae*, nižší aktivita byla zaznamenána u druhu *Acarus siro* a nejnižší u *Lepidoglyphus destructor*. Aktivita tohoto enzymu koreluje u jednotlivých roztočů s rychlostí růstu populací roztočů na sledovaných houbách (Hubert, nepublikováno).

Chitin je nejběžnější látkou stěn buněk hub (Adler et al. 2002). V mnoha případech bylo dokázáno, že jej někteří členovci též dokážou zpracovat a využít pravděpodobně jako zdroj energie (Siepel & Ruiter-Dijkman 1993; Smrž & Norton 2003). Zpracování chitinu je možné za pomoci chitinázy, enzymu schopného chitin štěpit. Schopnost produkce chitinázy mají nějaké bakterie, například u skladištního roztoče *Tyrophagus putrescentiae* byly nalezeny s chinolytickou aktivitou tyto bakterie: *Pseudomonas stutzeri*, *Brevundimonas vesicularis*, *Stenotrophomonas maltophilia* (Smrž & Soukalová 2008 In Smrž & Čatská 2010), *Serratia liquefaciens* a *S. marcescens* (Smrž & Norton 2003; Smrž & Čatská 2010). Tyto bakterie se mimo roztoče *T. putrescentiae* vyskytují ve střevech mnoha dalších druhů roztočů, jež spásají mikroskopické houby. U bakterie *Serratia marcescens* byla navíc zjištěna, kromě chinolytické aktivity, i aktivita trehalázová (Smrž et al. 1991).



Obrázek 5: Schéma mikroskopické houby, konkrétně *Aspergillus* sp. Tělo tvoří tři základní součásti – mycelium, hyfy a spory.

3.2. Kairomony

Jistou evoluční pomoc při vyhledávání potravy a kopulaci přinášejí roztočům kairomony. Jsou to takzvané "atrahující metabolity", které jsou vylučovány při procesech, jež v konečném důsledku vedou k růstu populace. Například pro roztoče se jedná se o amoniak (NH_3) a guanin ($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_5\text{O}$).

3.2.1. Amoniak

Amoniak je produkt metabolismu mikroskopických hub. Při pokusech provedených v laboratorních podmínkách byla potvrzena hypotéza, že roztoči byli touto látkou atrahováni a migrují k místům s jejím výskytem.

Plynný amoniak je vábící látkou i konkrétně pro druh roztoče *Acarus siro* a to pro samčí pohlaví až 10^2 krát více, než pro samičí pohlaví. Amoniak je tedy shromažďovací feromon pro nespárené samce a samičí pohlaví u roztoče *Acarus siro* (Levinson et al. 1991) a po spáření k němu u obou pohlaví klesá schopnost vnímání (Levinson et al. 1991).

3.2.2. Guanin

Během spásání mikroskopických hub pak produkuje roztoči látku zvanou guanin, která funguje jako další shromažďovací signál a láká nové jedince. Na těch místech, kde se vyskytuje guanin, pak dochází ke zvýšenému počtu kopulací jedinců a nárůstu populace (Levinson et al. 1992).

Jakmile dojde k přemnožení populace, roztoči tato místa opouštějí a přesouvají se na nová stanoviště do blízkého okolí a s tím i přenášejí mikroskopické houby (Abbott 2002).



Obrázek 6: Schéma – *Acarus siro* je lákán ascomycetami a guaninem

Ze schématu je patrné, že roztoč *A. siro* je lákán amoniakem mikroskopické houby. Při jejím spásání pak může vylučovat guanin, čímž láká další členy druhu. Na mikroskopických houbách (zdroji potravy) se pak úspěšně množí a při migraci s sebou roznáší roztoči spory hub a zakládají jejich nová ohniska. Převzato z Levinson et al. 1991.

Guanin je produkovaný na substrátu, který tvoří adekvátní dietu jak pro velmi často se v rostlinných komoditách vyskytujícího roztoče *Acarus siro*, tak i pro saprofytické vřeckovýtrusné houby (*Ascomycota*), se kterými konkrétně populace *A.siro* koexistují. Popis vztahu nejlépe znázorňuje schéma na obrázku 6 (Levinson et al. 1991). Vztahová koexistence je dána například i tím, že druh *A. siro* zřídka konzumuje pšeničný endosperm, který není napaden mikroskopickými

houbami. Tito roztoči mají značnou nutriční preferenci pro skladované rostlinné komodity napadené mikroskopickými houbami. Dieta z těchto hub splňuje veškeré požadavky pro růst a reprodukci (Sinha & Wallace 1966). Po spasení částí obilok spolu s částmi mikroskopických hub, roztoči značně přispívají k diseminaci konidií a askospor. Populace *A.siro* se ale povětšinou vyskytuje ve společnosti s houbovou mikroflórou zahrnující zejména *Acremonium strictum*, *Aspergillus candidus* a *Penicillium chrysogenum* (Levinson et al. 1991).

Roztoči druhu *A. siro* vylučují spolu s exkrementy dusíkaté odpadní produkty, a to zejména guanin. Zatímco mikroskopické houby jako jeden ze svých terminálních metabolitů vylučují amoniak. Receptory pro přijímání informačních látek mají roztoči umístěné na koncích nohou (Levinson et al. 1991). Oba konečné produkty dusíkatého metabolismu musely být získány brzy v průběhu evoluce. Guanin funguje jako shromažďovací feromon, zatímco dusíkaté látky jsou atraktivní pro *A.siro* zejména před pářením. Oběma chemickými signály však roztoči komunikují o dostupnosti potravy a přítomnosti stejného druhu, kde je zajištěno páření a reprodukce daného druhu (Levinson et al. 1991).

3.3. Oboustranné ovlivnění konzumací mikroskopických hub členovci

Houby se spolu s migrací členovců dostávají na nová mikrostanoviště pomocí přilepování spor na povrchu jejich těl. Pokud členovci nejsou schopni strávit veškeré spory, procházejí jejich zažívacím traktem a po opuštění těla spolu s exkrementy jsou schopné znovu vyklíčit. Nicméně mezitím se spolu s vektorem dostávají na jiná mikrostanoviště (Williams et al. 1998; Duek et al. 2001). Zde houby mohou bujet a narůstat opět na nových zdrojích, na něž je členovci přenesou. Například na jádrech podzemnice olejné, kde probíhala vysoká infestace mikroskopickou houbou *Aspergillus flavus*, byla v přítomnosti roztočů *Caloglyphus* sp. a *Thyrophagus* sp. tato houba ještě více podporována ve svém rozvoji. Roztoči přenášeli *A. flavus* z jader do jader a fungovali jako vektor (Aucamp 1969 In Stejskal & Hubert 2006).

A houby mohou profitovat také z toho, že roztoči jejich hyfy spásají. Může se u nich projevit zrychlený kompenzační růst mycelia (Hedlund et al. 1991).

Houbám mohou interakce svědčit, ale jsou pod velkým tlakem z hlediska napadání a spásání všemi fungivorními členovci, hlavně brouky a roztoči (Ruess & Lusenhop 2005 In Rohlf & Churchill 2011). Hlavním důvodem je, že tyto houby mají schopnost akumulovat velké množství dusíku a fosforu. Jsou tedy důležitými zdroji těchto prvků. Tedy i houby zpětně mohou z nutričního hlediska podporovat růst populací členovců. Například *A.flavus* podporuje růst *T. putrescentiae* a vice versa (Franzolin et al. 1999). Roztoči (Levinson et al. 1992) i brouci (Wright et al. 1980) nutričně preferují potravu, kde se mikroskopické houby vyskytují.

Kromě dospělých členovců se na houbách žíví i larvy. Je zcela běžné, že samičky mnoha členovců se nechají na dané místo zlákat kairomony a poté i svá vajíčka pokládají blízko hyf hub (Warcup 1967 In Hubert et al. 2004). Poměrně mnoho z těchto vajíček nebo vylíhlých larev však opět umírá, což je zpětným zdrojem dusíku pro houby (Klironomos & Hart 2001). Mimo larev zde umírají stejným způsobem i dospělí členovci. Houby využívají k usmrcení své sekundární metabolity (Rodrigues et al. 1984). Například houby *Aspergillus* a *Penicilium* se pak na nich rozvíjejí (Warcup 1967), protože členovci poskytují velké množství látek, které mohou v substrátu chybět, zejména dusík.

Vztah může být výhodný pro členovce, houby nebo pro obě skupiny (Hubert et al. 2004). Otázkou zůstává, proč jsou mykotoxiny pro většinu druhů členovců tak toxické, že na nich umírají a zároveň jsou pro houby tak výhodní. Možné vysvětlení, které poskytuje studie (Triens & Rohlf 2011), kde byla hypotéza zkoumána je, že mikroskopické houby využívají své sekundární metabolity jako chemický štít, používaný při obraně proti nadměrnému spásání fungivorními členovci. Tomu by i odpovídal proces, kdy se při přítomnosti členovců se skladištními mikroskopickými houbami množství mykotoxinů zvýší. Například mikroskopická houba *Aspergillus flavus* při spásání roztočem *Tyrophagus putrescentiae* zvýšila produkci mykotoxinů (Franzolin et al. 1999). Ve hmyzem poškozených vzorcích obilovin, bylo 100 % vzorků napadených druhem *Aspergillus flavus* (největší producent aflatoxinu) a 95 % rodem *Penicilium* (producent ochratoxinu). Ve více jak polovině vzorků izolované houby *A. flavus* byl detekován nejméně aflatoxin B₁, v polovině toxických kultur se vyskytoval také B₁ i B₂ a v pěti vzorcích byl i detekován aflatoxin G₁ (Sinha & Sinha 1991). Další experiment (Beti et al. 1995) byl obdobný. Skladované klasy kukuřice, které byly infestované houbou *A. flavus* a kontaminované pilousem *Sitophilus zeamays* měly vyšší obsah aflatoxinu než neinfestovaná kukuřice (Beti et al. 1995).

Pro potvrzení či vyvrácení hypotézy o tvorbě mykotoxinů jako chemického štítu proti fungivornímu hmyzu, byly vytvořeny experimentální pokusy prováděné na běžném laboratorním hmyzu - octomilce obecné (*Drosophila melanogaster*). Byl nalezen signifikantní efekt selekčního režimu na přežití larev octomilky krmených mikroskopickou houbou, která produkuje mykotoxiny (Triens & Rohlf 2011). Jedinci byli selektováni po několik generací a rozdíl mezi nimi a kontrolní neselektovanou skupinou byl výrazný. Selektovaná skupina krmena mikroskopickými houbami oproti kontrolní skupině v přežití úspěšnější (Triens & Rohlf 2011). Oproti tomu fungivoři, kvůli negativnímu vlivu fungivorie na růst hub, mohou být selekční silou podporující evoluci biosyntézy sekundárních metabolitů u mikroskopických hub (Rohlf et al. 2007).

4. Patogenní bakterie

Mnoho rozmanitých druhů členovců, kteří migrují do uskladněných potravin, a nebo v rámci skladovaných potravin, nesou na svém povrchu nebo uvnitř těl celou škálu bakterií (Gorham 1979;

Zurek & Gorham 2008), jež jsou schopné vyvolat onemocnění u lidí i domestikovaných zvířat (Zurek & Gorham, 2008).

4.1. Bakteriální patogeny způsobující přímé zdravotní komplikace

Hlavní bakteriální patogeny nacházející se ve skladovaných potravinách vyvolávající nemoci z jídla zahrnují více než 2300 typů *Salmonell*, kmeny *E. coli*, mj. i kmen O157: H7, *Campylobacter jejuni* a kmeny *Yersinia*. Studie ukazují, že krmiva jsou velmi často kontaminována bakteriemi *Salmonella*, *Enterococcus* sp. a *Escherchia coli* (zahrnující *E.coli* O157:H7) (Channaiah et al. 2009), z nichž *Salmonella*, *Escherchia* a *Campylobacter jejuni* mohou způsobovat onemocnění fekálně-orální kontaminací (Borchers et al. 2010). V případě, že se tyto bakterie namnoží na infekční dávku, mohou způsobovat nepříjemné krátkodobé až chronické komplikace. (Borchers et al. 2010).

Mezi potenciálně patogenní bakterie, které můžeme nalézt v prostředí skladovaných potravin a krmiv, řadíme rody:

Salmonella (např. *S. montevideo*, *S. heifelbereger*, *S. worington*, *S. saint paul*, *S. typhimurium* var. *copenhagen*, *S. chester*),

Esechrichia coli (různé skupiny charakterizované dle povrchových antigenů),

Campylobacter (*C. coli*, *C. jejuni*)

Yersinia enterocolica.

4.1.1. Interakce patogenních bakterií způsobujících přímé zdravotní komplikace s členovci

Lze předpokládat, že při společném výskytu členovců a bakterií ve skladovaných potravinách, dochází k interakci. Členovci bakterie konzumují a roznáší po skladech na nová mikrostaniště.

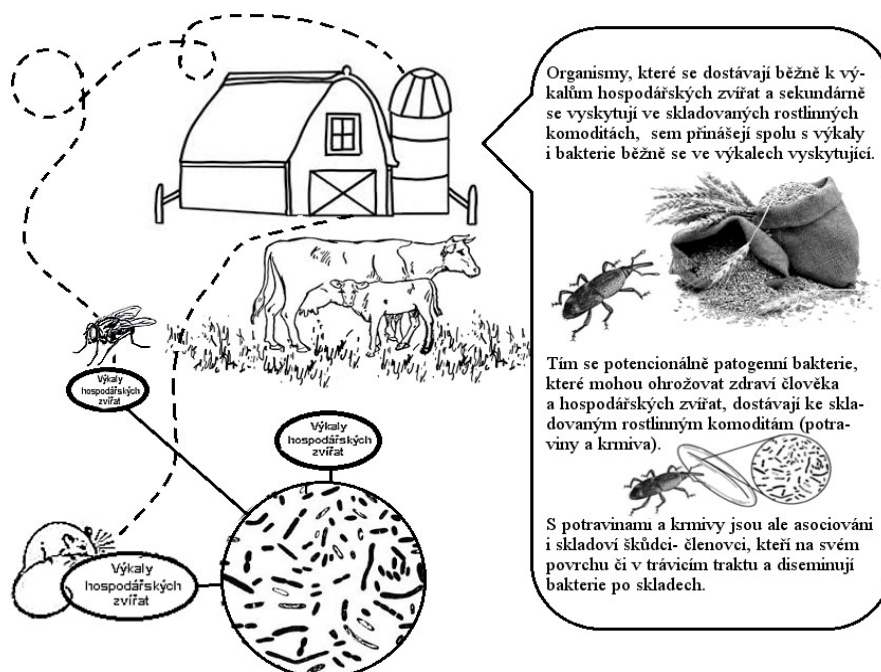
Typy synantropních členovců si můžeme rozdělit do dvou skupin: na členovce, kteří se vyskytují zásadně ve skladech s potravinami a krmivy, a na typ škůdců, kteří jsou známi pro svůj výskyt jak v místech bohatých na patogenní bakterie, tak na potraviny předurčené ke konzumaci lidmi nebo domácími zvířaty (Zurek & Gorham 2008).

První skupinu tvoří členovci, které zastupují brouci, roztoči a pisivky. Od druhé skupiny se odlišují nejen běžným výskytem na odlišných substrátech, ale i mobilitou a tudíž schopností roznášet potenciálně patogenní bakterie ohrožující člověka, který je přijme do těla při konzumaci napadených potravin.

Druhou skupinu zastupují synantropní švábi a mouchy (Zurek & Gorham 2008), avšak stejnou funkci mají i synantropní hlodavci (myš domácí *Mus musculus*, potkan obecný *Rattus norvegicus* a krysa obecná *Rattus rattus*). Švábi jsou široce rozšířeni v přírodě po celém světě, ale pouze relativně

malé množství druhů se adaptovalo k životu v blízkosti člověka (Zurek & Gorham 2008). Spásají všechny typy potravy, ke které se dostanou, navštěvují výkaly a další tlející organické materiály. Migraci se poté dostávají z míst s vysokým množstvím potenciálně patogenních bakterií na potraviny, které jsou určené ke konzumaci lidmi a zvířaty. Do těchto míst pak mohou potencionálně patogenní potraviny přenášet (Zurek & Gorham 2008), schéma přenosu je patrné na obrázku č. 5.

Mouchy reprezentují uzavřenou asociaci hmyzu s bakteriemi pocházejícími z lidských a zvířecích výkalů a dalších tlejících organických materiálů (Zurek & Gorham 2008). Mouchy mohou kontaminovat bakteriemi (zahrnujícími potravinové patogeny) potravu a pití. Důvodem tohoto jsou stanoviště, na kterých se rozvíjejí, způsob spásání, neomezený pohyb a lákání k místům, kde se vyskytují lidé a domestikovaná zvířata (Zurek & Gorham 2008).



Obrázek č. 7 - Na schématu je znázorněn přenos bakterií pomocí blíže nespecifikované mouchy, ale stejný proces se děje v případě švábů. Dále je popsán ve stručnosti přenos a diseminace bakterií z výkalů na potraviny (Zurek & Gorham 2008).

Špatné hygienické podmínky, vysoká teplota a dostatečné potravinové zdroje v průběhu roku ve skladovaných rostlinných komoditách vytvářejí prostředí umožňující výskyt, přežití a populační exploze skladištních členovců. Například běžně se ve skladovaném zrní vyskytující pilous *Sitophilus granarius* je potenciálním zdrojem bakterií pro kontaminaci skladovaných rostlinných komodit. Některé z baterií v něm nalezené jsou patogenní i pro člověka. (Harein & Casas 1968).

4.1.1.1. *Salmonella*

Jednou z hlavních cest přenosu je přenos z mlýnů (Borchers et al. 2010), kde se vyskytuje velmi mnoho druhů bakterií. U člověka se onemocnění projevuje bolestmi hlavy, horečkou, pocitem na zvracení, bolestmi břicha a průjmem, který začíná 9–72 h po infekci (Borchers et al. 2010).

Salmonella je přenášena řadou členovců. Například potěmník *Alphitobius diaperius* může být považován za zdroj bakterií ve skladovaných rostlinných produktech (Harein et al. 1969). Uvnitř jeho larev i dospělců bylo nalezeno pět druhů *Salmonell* (*S. heifelbereger*, *S. worington*, *S. saint paul*, *S. typhimurium* var. *copenhagen* a *S. chester*) (Harein et al. 1969). A každý druh bakterie je znám jako patogen pro zvířata i lidi. (Oye 1964). Další brouci – *Sitophilus oryzae*, *S. granarius*, *Tribolium castaneum* a *Oryzaephilus surinamensis* – přenášejí bakterii *Salmonella montevideo* z kontaminované pšenice do čisté pšenice (Crumrine et al. 1971), ovšem pouze v rámci prvního přechodu – do dalších vzorků již bakterie přenesena nebyla (Crumrine et al. 1971). *Salmonella montevideo* byla popsána jako jedna z deseti nejvíce frekventovaných izolátů bakterií z potravin a krmiv v USA. (Crumrine et al. 1971). Vzhledem k omezené migraci skladištních brouků nejsou však nyní považovány za významné vektory této bakterie (Zurek & Gorham 2008).

4.1.1.2. *Escherchia*

Dalším patogenem, nalézajícím se ve skladovaných rostlinných komoditách je *Escherchia*. Vůbec nejnebezpečnější z rodu *Escherchia* je kmen *Escherchia coli* O157:H7, který produkuje toxiny. Výskyt tohoto kmenu je detekován mj. ve střevech některých savců (Borchers et al. 2010). Vzplanutí onemocnění se projevuje průjmy (mohou být i krvavé), křečemi v břiše, pocitem na zvracení, malátností, horečkou a zvracením. Toto vše může nastat v průběhu třech až osmi dní od infekce. Zotavení se děje běžně mezi osmým až desátým dnem (Borchers et al. 2010).

Za potenciálního přenašeče bakterie *Escherchia coli* bylo označeno dospělé stádium potěmníka *Alphitobius diaperius* (Harein et al. 1969). Některé sérotypy *E. coli* izolované i z jeho larev byly pro člověka či zvířata rovněž patogenní (Harein et al. 1969), avšak larvy jsou za vektory označitelné jen velmi těžko. Ze sérotypů *E. coli* izolovaných z dospělců potěmníka *Alphitobius diaperius* byla pětina asociována s průjmovými onemocněními lidí (Harein et al. 1969). Do potravin tuto bakterii může zanášet moucha *Musca domestica* (Wales et al. 2010), a v potravinách ji teoreticky mohou brouci roznášet, ale vzhledem k jejich omezené migraci nejsou nyní považováni za významné vektory této bakterie (Zurek & Gorham 2008), stejně jako v případě bakterie *Salmonella*.

4.1.1.3. *Campylobacter*

Onemocnění způsobené *Campylobacter* se nazývá kampylobakterióza a v USA je jednou z nejběžnějších infekcí (Borchers et al. 2010). Konkrétně *Campylobacter jejuni* se spolu s již zmíněnými dalšími rody bakterií řadí mezi hlavní bakteriální patogeny. Onemocnění se projevuje

bolestmi hlavy, horečkou a bolestí svalů dva až pět dní po infekci. Později se mohou dostavit bolesti břicha, průjemy a pocity na zvracení (Borchers et al. 2010). Bakterie se vyskytuje ve vodě a u zvířat, zejména u ptáků. Infekce je možná z již zmíněné vody a ze živočišných produktů hospodářských zvířat (Borchers et al. 2010).

Potencionálním přenašečem kampylobakterií jsou opět mouchy. V prostředí líhni kuřat bylo odchyeno více druhů much, z nichž 8% přenášelo bakterii *Campylobacter jejuni* potenciálně z volně žijících zvířat na kuřata (Hald et al. 2004). Potencionálním přenašečem je potěmník *Alphitobius diaperinus* (Bates et al. 2004).

4.1.1.4. Yersinia

Poslední bakterií, která se vyskytuje ve skladovaných rostlinných komoditách a mohla by případně ohrožovat zdraví lidí a hospodářských zvířat je *Yersinia enterocolica*. Vyskytuje se v půdě, vodě, často je izolována z prasat, koček, psů, ptáků (Borchers et al. 2010). Onemocnění vyvolané druhem *Y. enterocolica* se nazývá mor. Projevuje se horečkou a bolestmi břicha, často také záněty žaludeční stěny, průjemy a zvracením v průběhu 24-48 hodin po infekci.

Ačkoliv se bakterie v potravinách a krmivech vyskytuje, nejsou popsány interakce s členovci (Zurek & Gorham 2008).

4.2. Bakteriální patogeny způsobující nepřímé zdravotní komplikace

Kromě toho, že se ve skladovaných rostlinných komoditách vyskytují patogenní bakterie, je možné zde nalézt i bakterie, které mohou přenášet geny pro rezistenci vůči antibiotikům. Geny, jež představují další možné ohrožení člověka a hospodářských zvířat, vznikají buď jako důsledek mutací genu na bakteriálním chromozomu, nebo získáním genu od jiné bakterie, která je rezistentní na danou antimikrobiální látku (Levy 2007). Předání genomu je možné pomocí transformace, transdukce či konjugace (Rosypal et al. 1981).

Schopnost přenosu genů pro rezistenci k antibiotikům mají enterokoky. Jsou to běžně nalézání symbionti v gastrointestinálním traktu domestikovaných zvířat zahrnujících skot, prasata a drůbež (Kühn et al. 2003). Otázka, jestli kmeny enterokoků a jejich geny antibiotické rezistence vznikají mezi zvířaty, není zcela zodpovězena (Quednau et al. 1999). Ale enterokoky pocházející od zvířat jsou schopné člověka infikovat (Das et al. 1997) a další publikace potvrzují, že se rezistentní kmeny bakterií na antibiotika šíří ze zvířat na lidi (Bates et al. 1993).

Stejně jako primární patogeny, jsou i enterokoky na površích a ve střevech brouků. Mezi hlavní izolované enterokoky patří:

Enterococcus casseliflavus,
E. faecium,
E. faecalis,
E. gallinarum,
E. hirae,
E. faecalis.

E. faecium a *E. hirae* byly izolovány ze vzorků krmiva odebraných v Evropě a UK (Kühn et al. 2003), kde se může vyskytovat i například *Salmonella* (Wales et al. 2010), které mohou enterokoky potencionálně předat geny pro antibiotickou rezistenci.

Více než 65 % brouků (zejména *S. zeamays*, *A. diaperinus* a *T. castaneum*), nalezených v mlýnech, silech a maloobchodech, bylo asociováno s enterokoky, pro názornost jsou nejběžnější skladištní brouci uvedeni v tabulce 2. Brouci byli pozitivní na bakterie *Enterococcus casseliflavus*, která byla nejhojněji zastoupena a to z více jak poloviny izolovaných vzorků a dále *E. gallinarum*, *E. faecium*, *E. hirae* (Channaiah et al. 2010). Mnoho izolovaných enterokoků bylo rezistentních na antibiotika, zejména tetracyklin a streptomycin a více jak 20% bylo rezistentních k více jak jednomu antibiotiku (Channaiah et al. 2010). Co se týče přenosu genů, tak gen pro tetracyklinovou rezistenci *tetM*, byl přenositelný konjugací mezi *E. faecalis* (Channaiah et al. 2010). Tato data demonstrují, že brouci nalezení ve skladovaných potravinách a krmivech mohou být potenciálními vektory v diseminaci antibiotické rezistence a potenciálně virulentních enterokoků (Channaiah et al. 2010).

Tabulka 2: Asociace enterokoků s běžně se vyskytujícími členovci. Převzato z Channaiah et al. 2010

Druh členovce	Množství členovců pozitivních na enterokoky v %	Průměrné množství enterokoků na jedince (z celkového počtu jedinců)
<i>Tribolium castaneum</i>	45,3 %	41 (75)
<i>Tribolium confusum</i>	42,8 %	38 (70)
<i>Alphitobilus diaperinus</i>	50 %	35 (2)
<i>Sitophilus zeamays</i>	0 %	0 (0)

V dalším experimentu byla taktéž potvrzena hypotéza, že běžně se vyskytující skladištní členovci budou s bakteriemi asociováni. S enterokokem *E. faecium* byl pozorován *S. zeamays*, *T. confusum*, *T. castaneum* a *T. variable* (Larson et al. 2008). S enterokokem *E. galinarium* byl pozorován *S. zeamays* a *T. variable* (Larson et al. 2008). Oba enterokoky byli rezistentní alespoň na jedno antibiotikum. Rezistence *E. faecium* k několika antibiotikům indikuje potenciální ohrožení zdraví, související s horizontálním přenosem genů antibiotické rezistence na další bakterie, zahrnující lidské patogeny jako je například *Staphylococcus aureus* (Weigel et al. 2003).

Ze získaných údajů vyplývá, že bakterie, které jsou běžně nalézány v prostředích skladů s potravinami a krmivy, jsou potenciálními přímými patogeny pro člověka. Roznos je možný pomocí dvou typů škůdců (švábů a much, popř. hlodavců a skladištních členovců). Avšak chybí údaje o to, zda přenos těchto patogenů vede ke vzplanutí infekčních onemocnění z potravinových patogenů. Proto jsou rizika přenosu patogenních mikroorganismů pro skladištní členovce vyhodnocována jako nízká.

Závěr

Skladištní členovci pohybující se ve skladovaných rostlinných komoditách způsobují velké škody. Svoji přítomností tvoří kvalitativní i kvantitativní ztráty. Kvantitativní ztráty v rozvinutých zemích činní 9–20 %. Kvalitativními ztrátami rozumíme přítomnost výkalů členovců a částí jejich těl, které mohou u lidí vytvářet alergické reakce. Taktéž svoji přítomností škodí tím, že interagují s patogeny a na površích či v útrokách těla je roznáší po skladovaných potravinách.

Hlavními patogeny, se kterými interagují skladoví členovci, jsou mikroskopické houby. Detekovaný výskyt ve skladovaných rostlinných produktech je prakticky celosvětový. Mikroskopické houby se nachází ve zmiňovaném prostředí i bez přispění skladových členovců, ale členovci jejich výskyt umocňují. Roznáší je spolu s vlastní migrací po skladovaných komoditách a tím mohou zakládat nová ohniska a vytvářet další ztráty. Na povrch a do svých těl je členovci dostávají hlavně díky velmi častému spásání. Roztoči i brouci mají značnou nutriční preferenci pro potraviny a krmiva napadené mikroskopickými houbami. Všichni členovci spásají mikroskopické houby pro jejich obsah důležitých prvků. Velmi často se však po této interakci zvyšuje množství sekundárních metabolitů těchto mikroskopických hub.

Dalšími patogeny, se kterými ve skladovaných rostlinných produktech členovci interagují, jsou bakterie. Ty si můžeme rozdělit do dvou typů, na základě toho, jak mohou ohrožovat člověka jako koncového spotřebitele. První typ bakterií způsobuje u lidí přímé zdravotní komplikace. Nejběžnějšími rody, které jsou ve skladech s rostlinnými komoditami nalézány, jsou *Salmonella*, *Yersinia*, *Campylobacter* a *Escherchia*. Všechny tyto bakterie mohou způsobit velmi nepříjemné zdravotní komplikace, pokud se namnoží na prahovou infekční dávku. Avšak toto je v prostředí skladovaných rostlinných produktů nemožné. Druhý typ bakterií způsobuje u lidí nepříjemné zdravotní komplikace. Jedná se zejména o rod *Enterococcus*. Tento rod má mnoho druhů, jež mohou přenášet geny pro antibiotickou rezistenci. Geny pro antibiotickou rezistenci si mohou bakterie předávat různými způsoby a ohrožení hospodářských zvířat či člověka je potenciálně možné. Další výzkumy snad pomohou přiblížit možnost ohrožení člověka jako koncového spotřebitele, jelikož rezistence vůči antibiotikům by mohla být velkým problémem stále narůstající populace obyvatel.

Seznam literatury:

- Abbott, S. (2002). Insects and other arthropods as agents of vector-dispersal in fungi. Unpublished. Online Version: [Http://www. Thermapure.com](http://www.Thermapure.com).
- Adler, C., Arzone, A., Athanassiou, Ch., Barbosa, A. F.F., Barros, G., Bartels, D., et al. (2002). Working Group „ Integrated Protection in Stored Products “ *Proceedings of the meeting, Bulletin OILB srop.*, 25.
- Anonym. (2003). Grain sampling methods to achieve consumer confidence and food safety. *The Home-Grown Cereals Authority (HGCA)*, (50), 0–36.
- Anonym. (2011). HGCA Grain storage guide: Grain storage guide for cereals and oilseeds, Third edition. Agriculture and Horticulture Development Board 2011. *Agriculture and Horticulture Development Board 2011*.
- Athanassiou, C. G., Kavallieratos, N. G., Nickolas, E., Sciarretta, A., Trematerra, P., & Palyvos, N. E. (2005). Spatiotemporal Distribution of Insects and Mites in Horizontally Stored Wheat. *Journal of Economic Entomology*, 98(3), 1058–1069.
- * Aucamp, J. L. (1969). The role of mite vectors in the development of aflatoxin in groundnuts. *Journal of Stored Products Research*, 5(3), 245–249.
- Avery, Simon V, Malcom Startford, P. V. W. (2008). Stress in yeasts and filamentous fungi, *Elsevier Academic Press, Amsterdam*, 311 s
- Bakan, B., Pinson, L., Fournier, E., & Brygoo, Y. (2002). Identification by PCR of *Fusarium culmorum* Strains Producing Large and Small Amounts of Deoxynivalenol, *Applied and Environmental Biology*, 68(11), 5472–5479.
- Barry, D., Widstrom, N., Darrah, L. L., McMillian, W. W., Riley, T. J., Scott, G. E., & Lilleho, E. B. (1992). Maize ear damage by insects in relation to genotype and aflatoxin contamination in preharvest maize grain. *Journal of Economic Entomology*, 85(6), 2492-95.
- Bates, A. C., Hiett, K. L., & Stern, N. J. (2004). Relationship of *Campylobacter* Isolated from Poultry and from Darkling Beetles in New Zealand. *Avian Diseases*, 48(1), 138–147.
- Bates, J., Jordens, Z., & Selkon, J. (1993). Evidence for an animal origin of vancomycin- resistant enterococci. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 342(8869), 490– 492.
- Bell, J. William, Roth, Louis M., Nalepa, C. A. (2007). Cockroaches: Ecology, Behavior, and Natural History. *The Johns Hopkins University Press*, 237 s.
- Bernhoft, A., Clasen, P.-E., Kristoffersen, A. B., & Torp, M. (2010). Less *Fusarium* infestation and mycotoxin contamination in organic than in conventional cereals. *Food Additives & Contaminants.*, 27(6), 842–52.
- Bernhoft, A., Sundstøl, G. E., Sundheim, L., Berntssen, M., Brantsæter, A. L., Brodal, G., ... Tronsmo, A. M. (2013). Risk assessment of mycotoxins in cereal grain in Risk assessment of mycotoxins in cereal grain in Norway. *The Norwegian Scientific Committee for Food Safety*.

- Beti, Jajuk A., Phillips, Thomas W., Smalley, E. B. (1995). Effects of Maize Weevils (*Coleoptera* : Curculionidae) on Production of Aflatoxin B1 by *Aspergillus flavus* in Stored Corn. *Journal of Economic Entomology*, 88(6).
- Borchers, A., Teuber, S. S., Keen, C. L., & Gershwin, M. E. (2010). Food safety. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 39(2), 95–141.
- 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(7), 611–624.
- Campbell, J. F., Arthur, F. H., & Mullen, M. A. (2004). Insect management in food processing facilities. *Advances in Food and Nutrition Research*, 48, 239–95.
- * Conor, B. M. (1979). Evolutionary origins of astigmatid mites inhabiting stored products. In Rodrigues J. (ed.), *Recent Advances in Acarology*, Academic Press, NY, 273-278.
- Creppy, E. E. (2002). Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters*, 127(1-3), 19–28.
- Crumrine, M. H., Foltz, V. D., & Harris, J. O. (1971). Transmission of *Salmonella montevideo* in wheat by stored-product insects. *Applied Microbiology*, 22(4), 578–80.
- Das, I., Fraise, A., & Wise, R. (1997). Are glycopeptide-resistant enterococci in animals a threat to human beings? New hantaviruses causing hantavirus pulmonary syndrome in central Argentina. *The Lancet*, 349(9057), 997–998.
- Deveci, O. (2006). Changes in the concentration of a Aflatoxin M 1 during manufacture and storage of White Pickled cheese. *Food Control*, 18(9), 1103–1107.
- Duek, L., Kaufman, G., Palevsky, E., & Berdicevsky, I. (2001). Mites in fungal cultures. *Mycoses*, 44 (9-10), 390–394.
- Franzolin, M. R., Gambale, W., Cuero, R. G., & Correa, B. (1999). Interaction between toxigenic *Aspergillus flavus* Link and mites (*Tyrophagus putrescentiae* Schrank) on maize grains : effects on fungal growth and aflatoxin production. *Journal of Stored Products Research*, 35(3), 215–224.
- Galvano, F., Galofaro, V., & Galvano, G. (1996). Occurrence and stability of aflatoxin M1 in milk and milk products. A worldwide review. *Journal of Food Protection*, 59(10), 1079– 1090.
- Gancedo, C., & Flores, C. (2004). The importance of a functional trehalose biosynthetic pathway for the life of yeasts and fungi. *FEMS Yeast Research*, 4(4-5), 351–359.
- Gorham, J. (1979). The significance for human health of insects in food. *Annual Review of Entomology*, 24 (1), 209-224
- Govaris, A., Roussi, V., Koidis, P. A., & Botsoglou, N. A. (2001). Distribution and stability of a X atoxin M 1 during processing , ripening and storage of Telemes cheese. *Food Additives & Contaminants.*, 18(5), 437–443.
- Guevara, R., Rayner, A., & Reynolds, S. E. (2000). Effects of fungivory by two specialist ciid beetles (*Octotemnus glabriculus* and *Cis boleti*) on the reproductive fitness of their host fungus, *Coriolus versicolor*. *New Phytologist*, 145, 137–144.

- Hald, B., Skovgaard, H., Bang, D. D., Pedersen, K., Dybdahl, J., Jespersen, J. B., & Madsen, M. (2004). Flies and Campylobacter infection of broiler flocks. *Emerging Infectious Diseases*, 10(8), 1490–1492.
- Hale, O., & Wilson, D. (1979). Performance of pigs on diets containing heated or unheated corn with or without aflatoxin. *Journal of Animal Science*, (48), 1394–1400.
- Harein, P. K., Casas, E., Pomeroy, B. S., & York, M. B. (1969). Salmonella spp. and Serotypes of Escherichia coli Isolated from the Lesser Mealworm Collected in Poultry Brooder Houses. *Scientific Journal Series*, 1967–1969.
- Harein, P., & Casas, E. (1968). Bacteria from granary weevils collected from laboratory colonies and field infestations. *Journal of Economic Entomology*. 61(6), 1719-1720 (2)
- Hedlund, K., Boddy, L., & Preston, C. M. (1991). Mycelial responses of the soil fungus, *Mortierella isabellina*, to grazing by *Onychiurus armatus* (collembola). *Soil Biology and Biochemistry*, 23(4), 361–366.
- Hell, K., Cardwell, K., Setamou, M., & Schulthess, F. (2000). Influence of insect infestation on aflatoxin contamination of stored maize in four agroecological regions in Benin. *African Entomology*, 8(1991), 1–9.
- Hubert, J., Jarošík, V., Mourek, V., Kubátová, J., & Zdárková, E. (2004). Astigmatid mite growth and fungi preference (Acari: Acaridida): Comparisons in laboratory experiments. *Pedobiologia*, 48(3), 205–214.
- Hubert, J., Stejskal, V., Kubátová, A., Munzbergová, Z., Vánová, M., & Zdárková, E. (2003). Mites as selective fungal carriers in stored grain habitats. *Experimental & Applied Acarology*, 29(1-2), 69–87.
- Hubert, J., Stejskal, V., Munzbergová, Z., Kubátová, A., Vánová, M., & Zdárková, E. (2004). Mites and fungi in heavily infested stores in the Czech Republic. *Journal of Economic Entomology*, 97(6), 2144–2153.
- Hubert, J., Žilová, M., & Pekár, S. (2001). Feeding preferences and gut contents of three panphytophagous oribatid mites (Acari: Oribatida). *European Journal of Soil Biology*, 37(3), 197–208.
- Hussein, H. S., & Brasel, J. M. (2001). Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, 167(2), 101–34.
- Channaiah, L. H., Subramanyam, B., McKinney, L. J., & Zurek, L. (2010). Stored-product insects carry antibiotic-resistant and potentially virulent enterococci. *FEMS Microbiology Ecology*, 74(2), 464–71.
- Kendrick, B. (1985). The fifth kingdom. *Mycologue Publications, Waterloo, Ontario*, 364 s.
- King, G. a., Gilbert, M. T. P., Willerslev, E., Collins, M. J., & Kenward, H. (2009). Recovery of DNA from archaeological insect remains: first results, problems and potential. *Journal of Archaeological Science*, 36(5), 1179–1183.
- Klironomos, & Hart. (2001). Animal nitrogen swap for plant carbon. *Nature*, 410(6829), 651.

- Kučerová, Z. (2002). Weight Losses of Wheat Grains Caused by Psocid Infestation (*Liposcelis bostrychophila*: Liposcelididae: Psocoptera). *Plant Protection Science*, 38(3), 103–107.
- Kučerová, Z., Aulický, R., Stejskal, V. (2003). Accumulation of pest-arthropods in grain residues found in an empty store. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 110(5), 499–504.
- Kühn, I., Iversen, A., Burman, L., Olsson-Liljequist, B., Franklin, A., Finn, M., ... Willby. (2003). Comparison of enterococcal populations in animals, humans, and the environment - a European study. *International Journal of Food Microbiology*, 88(2-3), 133–145.
- Larson, Z., Subramanyam, B., Zurek, L., & Herrman, T. (2008). Diversity and antibiotic resistance of enterococci associated with stored-product insects collected from feed mills. *Journal of Stored Products Research*, 44(2), 198–203.
- Levinson, H. Z., Levinson, A. K., & Müller, K. (1991a). Functional adaptation of two nitrogenous waste products in evoking attraction and aggregation of flour mites (*Acarus siro* L.). *Anz. Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz*, 64, 55–60.
- Levinson, H. Z., Levinson, A. R., & Müller, K. (1991b). The Adaptive Function of Ammonia and Guanine in the Biocenotic Association Between Ascomycetes and Flour Mites (*Acarus siro* L.). *Naturwissenschaften*, 78, 174–176.
- Levinson, H. Z., Levinson, A. R., & Offenberger, M. (1992). Effect of dietary antagonists and corresponding nutrients on growth and reproduction of the flour mite (*Acarus siro* L.). *Experimentia*, 48(8), 721–729.
- Magan, N. (2006). Mycotoxin contamination of food in Europe: early detection and prevention strategies. *Mycopathologia*, 162(3), 245–53.
- Magan, N., & Aldred, D. (2007). Post-harvest control strategies: Minimizing mycotoxins in the food chain. *International Journal of Food Microbiology*, 119(1-2), 131–139.
- Magan, N., & Olsen, M. (2004). Mycotoxins in food. *Woodhead Publishing Limited.*, 23(1), 471 s.
- Miller, D. M.; Wilson, D. M. (1994). Veterinary diseases related to aflatoxins. In: Eaton, D. L., Groopman, J. D. (Eds.), *The Toxicology of aflatoxins: human health, veterinary, and agricultural significance*. *Academic Press*, 347-364
- Miller, J. (1995). Fungi and mycotoxins in grain: implications for stored product research. *Journal of Stored Products Research*, 31(1), 1–16.
- Mills, J. T. (1983). Insect fungus associations seed deterioration. *Phytopathology*, 73(2), 329–335.
- Mohammadi, H. (2001). A Review of Aflatoxin M₁, Milk and Milk products. *Aflatoxins - Biochemistry and Molecular Biology*, 1, 397–414.
- * Moss, M. (1991). The environmental factors controlling mycotoxin formation., In: Smith, J.E. & Henderson R.S. (Eds.), *Mycotoxins and animal foods*. *CRC Press, Inc.* 37-52
- Nesvorná, M., Gabrielová, L., & Hubert, J. (2012). Suitability of a range of *Fusarium* species to sustain populations of three stored product mite species (Acari: Astigmata). *Journal of Stored Products Research*, 48, 37–45.

- Olsen, A. R., Gecan, J. S., Ziobro, G. C., & Bryce, J. R. (2001). Regulatory action criteria for filth and other extraneous materials v. strategy for evaluating hazardous and nonhazardous filth. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 33(3), 363–92.
- Peterson, S. W., Ito, Y., Horn, B. W., & Goto, T. (2001). *Aspergillus bombycis*, a New Aflatoxigenic Species and Genetic Variation in Its Sibling Species, *A. nomius*. *Mycologia*, 93(4), 689–703.
- Phillips, T. W., & Throne, J. E. (2010). Biorational approaches to managing stored-product insects. *Annual Review of Entomology*, 55, 375–97.
- Quednau, M., Ahmé, S., & Molin, G. (1999). Genomic relationships between *Enterococcus faecium* strains from different sources and with different antibiotic resistance profiles evaluated by restriction endonuclease analysis of total chromosomal DNA using EcoRI and PvuII. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(4), 1777–80.
- Richard, J. L. (2007). Some major mycotoxins and their mycotoxicoses--an overview. *International Journal of Food Microbiology*, 119(1-2), 3–10.
- Rodrigues, J. G., Potts, M. F., & Patterson, C. (1984). Mycotoxin- producing fungi: effects on stored product mite. *Acarology VI, Psychology and Biochemistry of Acari*, 1, 343–350.
- Rohlf, M., & Churchill, A. C. L. (2011). Fungal secondary metabolites as modulators of interactions with insects and other arthropods. *Fungal Genetics and Biology*, 48(1), 23–34.
- Rohlf, M., Albert, M., Keller, N., & Kempken, F. (2007). Secondary chemicals protect mould from fungivory. *Biology Letters*, 2007, 3 (5), 523-525
- Rosypal, S., Hodák, K., Martinec, T., & Kocur, M. (1981). *Obečná bakteriologie*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1981. 749 s
- * Ruess, L., & Lusenhop, J. (2005). Trophic Interactions of Fungi and Animals. In J. Dighton, F. White, & P. Oudemans (Eds.), *The Fungal Community* (pp. 581–598).
- Salas, B., Steffenson, B. J., Pathology, P., Casper, H. H., Tacke, B., Sciences, M., ... Fetch, T. G. (1999). *Fusarium Species Pathogenic to Barley and Their Associated Mycotoxins*, 1999, 83 (7), 667–674.
- Siepel, H., & Rüter-Dijkman, E. M. (1993). Feeding guilds of oribatid mites based on their carbohydrase activities. *Soil Biology and Biochemistry*, 25(11), 1491–1497.
- Sinha, R., & Mills, J. (1968). Feeding and reproduction of the grain mite and the mushroom mite on some species of *Penicillium*. *Journal of Economic Entomology*, 61(6), 1968.
- Sinha, A.K. & Sinha, K. . (1990). Insect pests , *Aspergillus flavus* and aflatoxin contamination in stored wheat : A survey at North Bihar (India). *Journal of Stored Products Research*, 26(4), 1990.
- Sinha, K. K., & Sinha, A. K. (1991). Effect of *Sitophilus oryzae* infestation on *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination in stored wheat. *Journal of Stored Products Research*, 27(1), 65–68.
- Sinha, K. K., & Sinha, A. K. (1991). Impact of stored grain pests on seed deterioration and aflatoxin contamination in maize. *Journal of Stored Products Research*, 28(3), 211–219.

- Sinha, R. N., & Wallace, H. a. H. (1966). Ecology of insect-induced hot spots in stored grain in western Canada. *Researches on Population Ecology*, 8(2), 107–132.
- Sinha, R., & Wallace, H. (1966). Association of granary mites and seed-borne fungi in stored grain and in outdoor and indoor habitats. *Annals of the Entomological Society*. 59 (6), 1966 , 1170-1181(12)
- Sinha, R.N., Wallace, H.A.H., Reiser, B. & Lefkovitch, L. P. (1979). Interrelations of arthropods and microorganisms in damp bulk stored wheat—A multivariate study. *Researches on Population Ecology*, 21, 40–67.
- Smrž, J., & Čatská, V. (2010). Mycophagous mites and their internal associated bacteria cooperate to digest chitin in soil., *Symbiosis*, 52, 33-40
- * Smrž, J., & Soukalová, H. (2008). Mycophagous mites (Acari: Oribatida and Acaridida) and their cooperation with chitinolytic bacteria. In: Bertrand M. Kreiter, S. McCoy, KD Migeon A., Navajas M., Tixier M.-S. Vial L. (Eds).: *Integrative acarology. EURAAC*, 359-362.
- Smrž, J., & Norton, R.A. (2003). Food selection and internal processing in *Archezogetes longisetosus* (Acari: Oribatida), *Pedobiologia* 48, 111–120
- Smrž, J., Svobodová, J. & Čatská, V. (1991). Synergetic participation of *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank)(Acari; Acaridida) and its associated bacteria on the destruction of some soil micromycetes." *Journal of applied Entomology*, 111, 206-210.
- Stejskal, V., & Hubert, J. (2006). Arthropods as sources of contaminants of stored products: an overview. *Proceedings of the 9th International Working Conference on Stored-Product Protection*, 1074–1080.
- Stejskal, V., Hubert, J., Kučerová, Z., Munzbergová, Z., Lukáš, J., & Žďárková, E. (2003). The influence of the type of storage on pest infestation of stored grain in the Czech Republic. *Plant, Soil and Environment*, 49(2), 55–62.
- Trienens, M., & Rohlf, M. (2011). Experimental evolution of defense against a competitive mold confers reduced sensitivity to fungal toxins but no increased resistance in *Drosophila* larvae. *BMC Evolutionary Biology*, 11(1), 206.
- Trucksess, M. W., & Scott, P. M. (2008). Mycotoxins in botanicals and dried fruits: a review. *Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 25(2), 181–92.
- Vega, F. E., Posada, F., Gianfagna, T. J., Chaves, F. C., & Peterson, S. W. (2006). An insect parasitoid carrying an ochratoxin producing fungus. *Die Naturwissenschaften*, 93(6), 297–9.
- Wales, A. D., Carrique-Mas, J. J., Rankin, M., Bell, B., Thind, B. B., & Davies, R. H. (2010). Review of the carriage of zoonotic bacteria by arthropods, with special reference to Salmonella in mites, flies and litter beetles. *Zoonoses and Public Health*, 57(5), 299–314.
- * Warcup, J. H. (1967). Fungi in soil. In A. Burges & F. Raw (Eds.) *Soil Biology, Academic Press, New York* (pp. 51 –110).

- Weigel, L. M., Clewell, D. B., Gill, S. R., Clark, N. C., McDougal, L. K., Flannagan, S. E., ... Tenover, F. C. (2003). Genetic analysis of a high-level vancomycin-resistant isolate of *Staphylococcus aureus*. *Science* (New York, N.Y.), 302(5650), 1569–71.
- * White, N. D. G.; Henderson, L. P.; Sinha, R. N. (1979). Effects of Infestations by Three Stored-Product Mites on Fat Acidity, Seed Germination , and Microflora of Stored Wheat. *Journal of Applied Entomology*, 72(5), 1979.
- Williams, R. H., Whipps, J. M., & Cooke, R. C. (1998). Role of soil mesofauna in dispersal of *Coniothyrium minitans*: transmission to sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Soil Biology and Biochemistry*, 30(14), 1929–1935.
- Wright, V., Casas, E., & Harein, P. (1980). Evaluation of *Penicillium* mycotoxins for activity in stored-product Coleoptera. *Environmental Entomology*, 9, 217–221.
- Zain, M. E. (2011). Impact of mycotoxins on humans and animals. *Journal of Saudi Chemical Society*, 15(2), 129–144.
- Zettel, J. (2010). Springtails and Silverfishes (Apterygota). *BioRisk*, 4(2), 851–854.
- Zurek, L., & Gorham, J. (2008). Insects as vectors of foodborne pathogens. *Wiley Handbook of Science and Technology for Homeland Security*, 1–16.

* přejaté citace jsou označeny hvězdičkou