

VYTAUTO DIDŽIOJO UNIVERSITETAS
LIETUVOS AGRARINIŲ IR MIŠKŲ MOKSLŲ CENTRAS

Eimantas VENSLOVAS

**PAŠARINIŲ AUGALŲ MITYBINĖ VERTĖ IR
MIKOTOKSINIŲ KAUPIMOSI RIZIKA APLINKOS IR
ANTROPOGENINIŲ VEIKSNIŲ POVEIKYJE**

Mokslo daktaro disertacija

Žemės ūkio mokslai, agronomija (A 001)

Kaunas, 2023

Daktaro disertacija rengta 2019–2023 metais Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centro Žemdirbystės institute pagal LR švietimo, mokslo ir sporto ministro 2019 m. vasario 22 d. įsakymu NR. V-160 suteiktą doktorantūros teisę Vytauto Didžiojo universitetui kartu su Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centru.

Mokslinė vadovė:

Dr. **Audronė Mankevičienė** (Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centras, Žemės ūkio mokslai, Gyvūnų mokslai A 003).

Mokslinis konsultantas:

Prof. habil. dr. **Zenonas Dabkevičius** (Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centras, Žemės ūkio mokslai, Agronomija A 001).

Disertacijos gynimo taryba:

Pirmininkas:

Dr. **Žydrė Kadžiulienė** (Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centras, Žemės ūkio mokslai, Agronomija A 001).

Nariai:

Doc. dr. **Violeta Baliukonienė** (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Žemės ūkio mokslai, Veterinarija A 002);

Dr. **Alma Valiuškaitė** (Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centras, Žemės ūkio mokslai, Agronomija A 001);

Dr. **Judita Černiauskienė** (Vytauto Didžiojo universitetas, Žemės ūkio mokslai, Agronomija A 001);

Dr. **Marek Pernica** (Brno Masaryko universitetas, Aplinkos chemija ir toksikologija, Gamtos mokslai, Chemija N 003).

Disertacija bus ginama viešame Agronomijos mokslo krypties tarybos posėdyje 2023 m. gruodžio 15 d. 10 val. Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centro Žemdirbystės instituto seminarų salėje, 1-12.

Adresas: Instituto al. 1, Akademija, LT-58344, Kėdainių r.

Disertaciją galima peržiūrėti Vytauto Didžiojo universiteto, Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centro bibliotekose.

VYTAUTAS MAGNUS UNIVERSITY
LITHUANIAN RESEARCH CENTRE FOR AGRICULTURE AND FORESTRY

Eimantas VENSLOVAS

**NUTRITIONAL VALUE OF FORAGE CROPS, MYCOTOXIN RISKS
AND RELATIONSHIPS WITH NATURAL AND
ANTHROPOGENIC FACTORS**

Doctoral Dissertation

Agricultural Sciences, Agronomy (A 001)

Kaunas, 2023

The dissertation was prepared at Institute of Agriculture, Lithuanian Research Centre for Agriculture and Forestry in 2019–2023. The right of doctoral studies was granted to Vytautas Magnus University jointly with Lithuanian Research Centre for Agriculture and Forestry, on 22 February 2019, by decision No. V-160 of the Government of the Republic of Lithuania.

Scientific supervisor:

Dr. **Audronė Mankevičienė** (Lithuanian Research Centre for Agriculture and Forestry, Agricultural Sciences, Animal Sciences A 003).

Scientific consultant:

Prof. habil. dr. **Zenonas Dabkevičius** (Lithuanian Research Centre for Agriculture and Forestry, Agricultural Sciences, Agronomy A 001).

Council of defence of the doctoral dissertation:

Chairman:

Dr. **Žydrė Kadžiulienė** (Lithuanian Research Centre for Agriculture and Forestry, Agricultural Sciences, Agronomy A 001).

Members:

Doc. dr. **Violeta Baliukonienė** (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary Medicine A 002);

Dr. **Alma Valiuškaitė** (Lithuanian Research Centre for Agriculture and Forestry, Agricultural Sciences, Agronomy A 001);

Dr **Judita Černiauskienė** (Vytautas Magnus University, Agricultural Sciences, Agronomy A 001);

Dr. **Marek Pernica** (Masaryk University Brno, Environmental Chemistry and Toxicology, Natural Sciences, Chemistry N 003).

The official defence of the dissertation will be held at 10 a.m. on the 15th of December 2023 at meeting room 1–12, Institute of Agriculture, Lithuania Research Centre for Agriculture and Forestry.

Address: Instituto av. 1, Akademija, LT-58344, Kėdainiai distr.

The doctoral dissertation is available at the libraries of Vytautas Magnus University and the Lithuania Research Centre for Agriculture and Forestry.

TURINYS

SANTRUMPOS.....	7
PADĖKA.....	9
ĮVADAS.....	10
1. LITERATŪROS ANALIZĖ	15
1.1. Kukurūzų ir miežių grūdų svarba Lietuvoje ir pasaulyje	15
1.2. Kukurūzų ir miežių grūdų technologinės savybės ir cheminė sudėtis	16
1.3. Grūdų užsikrėtimas mikroskopiniais grybais ir užterštumas mikotoksinais	18
1.4. Aplinkos sąlygų reikšmė mikotoksinų koncentracijų pokyčiui.....	20
1.5. Grūdų sandėliavimo reikšmė mikotoksinų koncentracijų pokyčiui	22
2. TYRIMO METODIKA IR SĄLYGOS	24
2.1. Lauko eksperimentai	24
2.2. Laboratoriniai eksperimentai.....	26
2.3. Miežių ir kukurūzų grūdų mitybinės vertės rodiklių tyrimai	28
2.4. Mikotoksinų nustatymas efektyviosios skysčių chromatografijos metodu	28
2.4.1 Laboratorinės priemonės ir įranga mikotoksinų nustatymui	28
2.4.2. Naudoti reagentai	29
2.4.3. Mėginių paruošimas.....	29
2.4.3. Standartinių tirpalų paruošimas	30
2.4.4. Standartinių tirpalų paruošimas	31
2.4.5. Kiekybinis apskaičiavimas	32
2.4.6. Mikotoksinų nustatymas imunofermeniniu (ELISA) metodu	33
2.5. Grūdų užsikrėtimo <i>Fusarium</i> spp. grybais nustatymas	34
2.6. Kukurūzų užsikrėtimo <i>U. maydis</i> nustatymas	34
2.7. Meteorologinės sąlygos tyrimo metais.....	34
2.8. Sandėliavimo eksperimentas	36
2.9. Statistinės analizės metodai	37
3. TYRIMO REZULTATAI IR APTARIMAS	38
3.1. Veislės/hibrido bei derliaus nuėmimo vėlinimo įtaka grūdų mitybinės vertės rodikliams	38
3.1.1. Miežių grūdai	38
3.1.2. Kukurūzų grūdai	43
3.2. Miežių veislės bei derliaus nuėmimo vėlinimo įtaka mikroskopinių grybų paplitimui ir mikotoksinų koncentracijoms miežių grūduose	50
3.2.1. <i>Fusarium</i> spp. paplitimas miežių grūduose vėlinant derliaus nuėmimą.....	50
3.2.2. DON, T-2, HT-2, ZEA ir AFL _{B1+B2+G1+G2} paplitimas miežių grūduose vėlinant derliaus nuėmimą.....	54

3.2.3. MON, NIV ir eniatinų paplitimas miežių grūduose vėlinant derliaus nuėmimą	57
3.3. Kukurūzų hibrido bei derliaus nuėmimo vėlinimo įtaka mikroskopinių grybų paplitimui ir mikotoksinų koncentracijoms kukurūzų grūduose	60
3.3.1. <i>Fusarium</i> spp. ir pūslėtųjų kūlių (<i>Ustilago maydis</i>) paplitimas kukurūzų grūduose vėlinant derliaus nuėmimą	60
3.3.2. DON, 3-ADON, 15-ADON, T-2, HT-2, ZEA ir AFL _{B1+B2+G1+G2} mikotoksinais kukurūzų grūduose vėlinant derliaus nuėmimą	63
3.3.3. A ir B tipo trichotecenai pūslėtosiomis kūlėmis (<i>Ustilago maydis</i>) užsikrėtusiuose kukurūzų grūduose.....	66
3.4. <i>Fusarium</i> spp. grybų ir mitybinės vertės rodiklių koreliaciniai ryšiai su mikotoksinais ..	68
3.4.1. Koreliaciniai ryšiai miežių grūduose	68
3.4.2. Koreliaciniai ryšiai kukurūzų grūduose	72
3.5. Sandėliavimo sąlygų įtaka mikotoksinų koncentracijų kitimui ir mitybinės vertės rodikliams kukurūzų grūduose	77
IŠVADOS	82
LITERATŪROS SĄRAŠAS	83
PASKELBTŲ PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS DISERTACIJOS TEMA	103
APIE AUTORIŲ	123
SUMMARY	124
LIST OF PUBLICATIONS	141
CURRICULUM VITAE	143

SANTRUMPOS

15-ADON – 15-acetyl-deoksinivalenolis / 15-acetyl-deoxynivalenol

1-AN – 1-antroilnitrilas / 1-antroilnitrile

3-ADON – 3-acetyl-deoksinivalenolis / 3-acetyl-deoxynivalenol

4-DMAP – 4-dimetilaminopiridinas / 4-dimethylaminopyridine

ACN – acetonitrilas / acetonitrile

ADF – rūgščiame detergento tirpale netirpi ląsteliena / acid detergent fibre

ADL – rūgštyje išplauto lignino / acid detergent lignin

AFL – aflatoksinai (B1 + B2 + G1 + G2) / aflatoxins (B1 + B2 + G1 + G2)

AIRA (NIRS) – artimosios srities infraraudonųjų spindulių spektroskopija / near infra-red spectroscopy

CIT – citrininas / citrinin

DON – deoksinivalenolis / deoxynivalenol

EFSA – Europos maisto ir saugos tarnyba / European Food Safety Authority

ENN – eniatinai B, B1, A, A1 / enniatins B, B1, A, A1

ELISA – imunofermentinis metodas, siekiant nustatyti antikūnių ar antigeno buvimą mėginyje / Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

ESCh / HPLC – efektyvioji skysčių chromatografija / high performance liquid chromatography

FAO – Jungtinių tautų maisto ir žemės ūkio organizacija / Food and Agriculture Organization

FLD – fluorescencinis detektorius / fluorescence detector

FUM – fumonizinai (B1 + B2) / fumonisins (B1 + B2)

HT-2 – HT-2 toksinas / HT-2 toxin

Kr – krakmolas / starch

LOD – žemiausia aptikimo riba / limit of detection

NDF – neutraliame detergento tirpale netirpi ląsteliena / neutral detergent fibre

NIV – nivalenolis / nivalenol

MON – moniliforminas / moniliformin

OTA – ochratoksinas A/ ochratoxin A

SM – sausosios medžiagos / dry matter

T-2 – T-2 toksinas / T-2 toxin

UV – ultravioletinis detektorius / ultraviolet detector

VTA – vandenyje tirpūs angliavandeniai / water soluble carbohydrates

ZEA – zearalenonas / zearalenone

ŽB – žali baltymai / crude protein

ŽL – žalia ląsteliena / crude fibre

ŽP – žali pelenai / crude ash

ŽR – žali riebalai / crude fat

PADĖKA

Norėčiau nuoširdžiai padėkoti visiems, kurie dalyvavo mano akademinėje kelionėje ir prisidėjo prie disertacijos rašymo.

Pirmiausia dėkoju savo darbo vadovei dr. Audronei Mankevičienei už nepaliaujamą paramą ir didžiulį rūpestį per visus šiuos studijų metus. Jos pagalba įsisavinant naujus metodus ir atsidavimas mano akademiniam tobulėjimui buvo neįkainojamas.

Norėčiau nuoširdžiai padėkoti savo moksliniam konsultantui prof. habil. dr. Zenonui Dabkevičiui. Jūsų išmintis ir patarimai buvo labai svarbūs mano darbo kokybei.

Taip pat esu nuoširdžiai dėkingas skyriaus vedėjai dr. Romai Semaškienei ir visiems savo kolegoms už pagalbą ne tik lauko darbuose, bet ir už palaikymą bei padrąšinimą viso šio darbo metu.

Norėčiau išreikšti dėkingumą disertacinio darbo recenzentėms dr. Žydrei Kadžiulienei ir doc. dr. Violetai Baliukonienei, už kruopštų recenzavimą ir pastabas, kurios reikšmingai prisidėjo prie mano tyrimo kokybės gerinimo.

Ypatinga padėka mano žmonai Lauksmei Merkevičiūtei-Venslovei už nepalaužiamą palaikymą ir žengimą kartu šiuo nelengvu keliu.

Taip pat esu dėkingas savo šeimai ir draugams už palaikymą ir supratimą.

Ačiū visiems, kad dalyvavote šiame svarbiame mano akademinio ir asmeninio augimo etape.

IVADAS

Pašariniai lauko augalai sudaro vieną gausiausių Lietuvoje naudingųjų augalų grupių. Dauguma jų auga pievose bei ganyklose, o daug rūšių auginamos ūkiuose, besiverčiančiuose augalininkyste ir gyvulininkyste. Kaip pašarinės žaliavos plačiai vartojami įvairūs grūdai. Tačiau labiausiai kokybės ir saugos atžvilgiu yra analizuojami kviečiai, o kukurūzams ir miežiams dėmesio skiriama mažiau (Janaviciene et al. 2018; Kochiiaru et al. 2019, 2020; Mesterházy et al. 2011).

Pagal svarbą visame pasaulyje kukurūzų (*Zea mays L*) grūdai yra antri po kviečių (Erenstein et al. 2022), tačiau Lietuvoje jie kaip silosui tinkami augalai, pradėti auginti tik apie 1960-uosius. Šiltėjant klimatui, tobulėjant auginimo technologijoms, selekciniams išvedus ankstyvos brandos kukurūzų hibridų, atsirado galimybė juos auginti ir grūdams, todėl kukurūzų grūdams Lietuvoje dabar auginama vis daugiau. Pasaulyje kukurūzai yra vieni iš svarbiausių grūdų žmonių ir gyvūnų mityboje. Tai maisto, pašarų ir perdirbtų produktų šaltinis, todėl labai svarbi jų maistinė vertė ir kokybė (Oliveira et al. 2017; Pereyra et al. 2011).

Paprastieji miežiai (*Hordeum vulgare*) pagal svarbą yra 4 vietoje pasaulyje po kviečių, kukurūzų ir ryžių. Šiaurės Europoje miežius dažnai pažeidžia varpų fuzariozė, kurią sukelia *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. sporotrichioides*, *F. langsethiae*, *F. tricinctum* ir *F. avenaceum* (Liatukas et al. 2019; Rodrigues et al. 2014). Tai labai pakenkia grūdų kokybei ir jie tampa netinkami nei žmonių vartojimui nei gyvūnų šėrimui (Hietaniemi et al. 2016).

Pastaruoju metu, dėl klimato kaitos, šalyse, kuriose auginama daug kukurūzų ir miežių grūdams, iškyla mikotoksinų problema, todėl ieškoma naujų būdų ir kuriamos naujos prevencijos strategijos jų kontrolei (Badr et al. 2016; Oliveira et al. 2017; Pereyra et al. 2011). Klimato kaita gali lemti palankias sąlygas *Aspergillus* ir *Fusarium* genčių grybams plisti. Dėl minėtų grybų kaupiamų aflatoksinų (AFL_{B1+B2+G1+G2}) ir deoksinivalenolio (DON) didėjančio kiekio galutiniuose produktuose kyla pašarų ir maisto saugos rizika tiek žmonėms, tiek gyvūnams. Taip pat prognozuojama, jog atsiradus galimybėms *Fusarium* rūšims labiau išplisti naujoje aplinkoje atsiras naujų mikotoksinų kaupimosi rizika specifiniuose regionuose (Miedaner and Juroszek 2021; Moretti, Pascale, and Logrieco 2019; Zingales et al. 2022).

Kita svarbi problema, jog iki šiol Europos Sąjungoje gyvūnams galiojantys teisės aktai nustatantys didžiausias leistinas mikotoksinų koncentracijas pašaruose yra tik rekomendacinio pobūdžio (European Commission 2006; European Parliament 2002). Daugelis mokslinių tyrimų susijusių su pašarų užterštumu mikotoksinais siekia atrasti optimaliausias augalų auginimo, derliaus nuėmimo laiko, jų apdorojimo ir sandėliavimo sąlygas, taip sumažinant užsikrėtimo mikotoksinais rizikas (Jestoi et al. 2004; Kochiiaru et al. 2021; Mannaa and Kim 2017; Sasamalo,

Mugula, and Nyangi 2018; Zhang et al. 2016). Dažnai tiriant atskirus mikotoksinus pastebima skirtinga įtaka mikotoksinų koncentracijoms, tačiau net ir nustačius mikotoksinų koncentracijų sumažėjimą, kyla rizika, kad jie skilo į kitus, ne mažiau pavojingus, derivatus (Agriopoulou, Stamatelopoulou, and Varzakas 2020; Karlovsky et al. 2016; P. Li et al. 2020). Todėl labai svarbu nuolat stebėti ir vertinti sąlygas, galinčias padidinti mikotoksinų koncentracijas bei jų vengti (Janić Hajnal et al. 2023).

Grūdų saugos rodikliai apima nepageidautinų priemaišų kiekį, užkrėstumą kenkėjais ir mikroskopinių grybų pradais, kurių gaminami mikotoksinai kelia pavojų gyvūnų, žmonių sveikatai ir aplinkai (EFSA 2014; Janić Hajnal et al. 2017; Medina, Rodríguez, and Magan 2015; Pleadin 2015). Pastebima, jog dėl grūdų pažeidimo kenksmingaisiais organizmais ženkliai didėja derliaus nuostoliai, prastėja grūdų kokybė, o tokie nepilnaverčiai grūdai paprastai patenka pašarų gamybai (Beyer, Verreet, and Ragab 2005). Lietuvoje vasariniai javai pasižymi didesniu užterštumu mikotoksinais ir prastesniais mitybinės vertės rodikliais nei žieminiai (Mankevičienė et al. 2011), todėl taip pat retai naudojami žmonių maistui, o pašarų racionuose tokie grūdai sudaro didžiausią procentą. Pasaulyje apie 70 proc. paprastųjų miežių naudojama pašarui, o apie 27 proc. alaus gamyboje (Janssen, Liu, and Van der Fels-Klerx 2018), tačiau daugiausia mokslinės informacijos pateikiama apie salyklinių miežių kokybę ir saugą (Bauer et al. 2016; Běláková et al. 2014; Morcia et al. 2016; Piacentini et al. 2018; Varga et al. 2013). Lietuvoje kuriant naujas vasarinių miežių veisles ir vertinant jų kokybę, taip pat labiausiai atsižvelgiama į salykliai tinkančias savybes bei analizuojama pačios sėklos kokybė ir ją lemiantys veiksniai (Liatukas et al. 2019; Mašauskienė, Leistrumaitė, and Paplauskienė 2007). Panaši situacija pastebima su kukurūzų grūdais - didesnė dalis kukurūzų yra panaudojama pašarams, tačiau ir vėl daugiau dėmesio skiriama maisto pramonei (Aoun et al. 2020; Lalage et al. 2023; Stathers et al. 2020).

Įvairiuose pasaulio kraštuose, kur auginami kukurūzai grūdams, susiduriama su skirtingomis problemomis (Bakoye et al. 2017; Hanvi et al. 2019), kurios analizuojamos nacionaliniu požiūriu, atsižvelgiant į specifinius šalių poreikius. Apie kukurūzų ir miežių grūdų naudojamų pašarams užterštumo mikotoksinais tyrimus rezultatų Lietuvoje aptinkama nedaug (Baliukonienė, Bakutis, and Stankevičius 2003; Mankevičienė and Auškalnienė 2004), dažniausiai tiriamas galutinis produktas - pagamintas pašaras ir jo maistinė vertė.

Tyrimo hipotezė

Tikėtina, kad vėlinant derliaus nuėmimo laiką bei keičiant sandėliavimo sąlygas, kinta pašarinių augalų (kukurūzų, miežių) grūdų mitybinė vertė ir atsiranda galimybė didėti mikotoksinų spektrui.

Tyrimo tikslas

Nustatyti kukurūzų ir miežių grūdų mitybinę vertę, užsiteršimą mikotoksinais bei išsiaiškinti kokią įtaką mitybinės vertės ir saugos rodikliams gali turėti gamtiniai bei antropogeniniai veiksniai.

Tyrimo uždaviniai:

1. Nustatyti kukurūzų ir vasarinių miežių grūdų svarbiausius mitybinės vertės rodiklius ir įvertinti jų kitimo dėsninumus priklausomai nuo auginimo sąlygų ir derliaus nuėmimo laiko.
2. Nustatyti, užterštumą mikotoksinais ir jų koncentracijų kitimą vasarinių miežių grūduose vėlinant derliaus nuėmimo laiką.
3. Išsiaiškinti, kokie mikotoksinais dažniausiai aptinkami kukurūzų grūduose ir kaip kinta jų koncentracijos vėlinant derliaus nuėmimo laiką.
4. Ištirti kukurūzų ir vasarinių miežių grūdų užsiteršimą mikotoksinais skirtingais derliaus nuėmimo laikotarpiais ir išsiaiškinti, ar yra ryšys tarp mikotoksinų koncentracijų ir grūdų mitybinės vertės rodiklių.
5. Nustatyti sandėliuojamų kukurūzų grūdų svarbiausių mitybinės vertės rodiklių kitimą ir išsiaiškinti rizikos veiksnius, įtakojančius mikotoksinų koncentracijų didėjimą.

Disertacijos ginamieji teiginiai

1. Vasarinių miežių veislės ir kukurūzų hibrido pasirinkimas, bei derliaus nuėmimo laiko vėlinimas ir meteorologinės sąlygos vegetacijos laikotarpiu lemia kukurūzų ir miežių grūdų mitybinės vertės rodiklių pokyčius.
2. Miežių grūdų užterštumo mikotoksinais didėjimą lemia derliaus nuėmimo laiko vėlinimas.
3. Kukurūzų grūdų užterštumas mikotoksinais priklauso nuo pasirinkto hibrido, o derliaus nuėmimo laiko vėlinimas lemia mikotoksinų koncentracijų didėjimą.
4. Kukurūzų grūdų sandėliavimo trukmė ir sąlygos turi įtakos mikotoksinų koncentracijų ir mitybinės vertės rodiklių pokyčiams.

Mokslinio darbo aktualumas

Europos Sąjungoje pašarų saugumui skiriamas didelis dėmesys, tačiau kombinuotųjų pašarų gamyboje naudojamos žaliavos ne visada būna geros kokybės, dažniausiai netinkančios maistinių grūdų rinkai. Europos Sąjungos dokumentai, susiję su mikotoksinų užterštumu gyvūnų pašaruose yra tik rekomendacinio pobūdžio (European Commission 2006), todėl dažniausiai šių nustatytų koncentracijų yra nepaisoma ir nepakankamai skiriama dėmesio šiai problemai. Tai ypač aktualu

smulkesnių ūkių tarpe, kurie patys augina pašarinius augalus ir naudoja savo ūkyje. Dažnai susiduriama su įvairiais gyvūnų susirgimais, kuriuos lemia mitybinės vertės ir saugos rodiklių pašaruose nepaisymas. Lietuvoje ir kitose pasaulio šalyse vis dar trūksta kukurūzų ir miežių grūdų kokybės tyrimų, kompleksiskai įvertinant jų mitybinę vertę ir užsiteršimą mikotoksinais. Trūksta informacijos apie pašarinių grūdų atitikimą saugos reikalavimams, atsižvelgiant į ES rekomendacijas dėl mikotoksinų koncentracijų. Ypatingai trūksta mokslinių žinių apie tai, kaip kinta mikotoksinų koncentracijos vėlinant derliaus nuėmimo laiką, kai dėl gamtinių sąlygų ar kitų priežasčių derlius ne visada nuimamas laiku. Mikotoksinų koncentracijų ir mitybinės vertės rodiklių pokyčiai sandėliavimo metu kukurūzų grūduose, kurie užauginti mūsų regionui būdingomis klimato sąlygomis, taip pat mažai tyrinėti. Tad šis mokslinis darbas suteikia naujų žinių apie optimalų kukurūzų ir miežių grūdų derliaus nuėmimo laiką bei optimalias kukurūzų grūdų sandėliavimo sąlygas siekiant išvengti didesnio užterštumo mikotoksinais.

Darbo naujumas

Atlikti kompleksiniai tyrimai, apėmė pašarams Lietuvoje dažniausiai auginamų augalų, skirtingų veislių ir hibridų miežių bei kukurūzų mitybinės vertės rodiklius, lauko patogenus, didelę mikotoksinų skalę bei koreliacinius ryšius tarp jų. Tokie tyrimai pirmą kartą atlikti ir išanalizuoti Lietuvoje, tačiau su tokia moksline informacija tyrimų negausu ir Europoje bei pasaulyje. Dažniausiai fragmentiškai įvertinti tik atskiri rodikliai, kurie ne visada duoda atsakymus į iškilusius klausimus (Jestoi et al. 2004; Kaaya et al. 2005). Deoksinivalenolio ir jo derivatų, T-2, HT-2 toksinų, moniliformino, nivalenolio ir eniatinų (ENN) B, B1, A, A1 analizių rezultatai pašariniuose grūduose papildė negausias žinias šioje srityje. Sandėliavimo eksperimento metu pirmą kartą ištirti mikotoksino citrinino (CIT) koncentracijų pokyčiai sandėliuojant mūsų regionui būdingomis klimato sąlygomis užaugintus kukurūzų grūdus, o nustatyti grūdų mitybinės vertės bei mineralinių medžiagų koreliaciniai ryšiai su mikotoksinais taip pat suteikia naujos ir vertingos mokslinės informacijos.

Darbo praktinė reikšmė

Šis mokslinis darbas suteikia informacijos apie mikotoksinų paplitimą pašarams skirtuose miežių ir kukurūzų grūduose Lietuvoje. Padeda suprasti kokios sąlygos lemia didesnes mikotoksinų koncentracijas, kai vėluojama nuimti derlių ir kaip turėtų būti sandėliuojami kukurūzų grūdai siekiant sumažinti užterštumo mikotoksinais riziką. Atliktos analizės galėtų prisidėti rengiant ES dokumentus ir rekomendacijas, susijusius su pašarų kokybe ir sauga.

Tyrimo rezultatų apibavimas

Disertacinio darbo tema paskelbti 2 moksliniai straipsniai turinčiuose citavimo indeksą. Konferencijų leidiniuose išspausdintos 9 santraukos, Dalyvauta 9 mokslinėse konferencijose, iš kurių 4 su žodiniai pranešimais ir 5 su stendiniai pranešimais. Išspausdintos 2 rekomendacijos.

Disertacijos turinys ir apimtis

Disertacija parašyta lietuvių kalba. Disertacijos apimtis – 144 puslapiai. Ją sudaro santrauka, įvadas, literatūros analizė, tyrimo metodai, tyrimo rezultatai ir jų aptarimas, išvados, publikacijų ir rekomendacijų sąrašas bei jų kopijos. Disertacijoje pateiktos 24 lentelės ir 16 paveikslų. Panaudoti 185 literatūros šaltiniai. Dalis disertacijoje naudojamų duomenų yra paimti iš doktoranto Eimanto Venslovo straipsnių: „Venslovas E., Mankevičienė A., Kochiieru Y., Merkevičiūtė-Venslovė L., Janavičienė S. 2022. Effect of storage conditions on the occurrence of mycotoxins and nutrient composition in maize grains. *Zemdirbyste-Agriculture*, 109 Nr. 4“, bei „Venslovas E., Mankevičienė A., Kochiieru Y., Janavičienė S., Dabkevičius Z., Bartkevičs V., Bērziņa Z., Pavlenko R. 2023. The effect of *Ustilago maydis* and delayed harvesting on A- and B-type trichothecene concentrations in maize grain. *Journal of Fungi*, 9 Nr. 8: 794“.

1. LITERATŪROS ANALIZĖ

1.1. Kukurūzų ir miežių grūdų svarba Lietuvoje ir pasaulyje

Kukurūzai (*Zea mays L.*) yra vienas iš labiausiai prisitaikančių augalų, gebantys augti įvairiomis aplinkos sąlygomis. Kukurūzai dažnai naudojami maistui ir gyvūnų pašarui (Suganya, Saravanan, and Manivannan 2020). Remiantis naujausiais tyrimais, po kviečių kukurūzai pasaulyje yra antroje vietoje pagal labiausiai auginamas kultūras (Erenstein et al. 2022). Tikimasi, kad per ateinantį dešimtmetį pasaulyje užauginamų grūdų kiekis padidės apie 12 proc. ir beveik pusę šio padidėjimo sudarys kukurūzų grūdai (OECD/FAO 2022). Taip pat tikimasi, kad kukurūzų grūdai sudarys didžiąją dalį grūdų naudojamų gyvūnų pašarams, o kukurūzų derlius Europoje, o ypač šiaurės Europoje, nepaisant klimato kaitos, išaugs dar labiau (Parent et al. 2018). Kukurūzai pašarams naudojami dėl maistinės sudėties ir didelio derliaus potencialo. Didžiąją kukurūzų grūdų dalį sudaro krakmolas, o gyvūnams tai yra vertingas ir gerai virškinamas energijos šaltinis, todėl kukurūzai yra naudojami galvijų šėrimui, o siekiant išlaikyti maistinę vertę iš kukurūzų yra gaminamas silosas (Guimarães et al. 2023; Karnatam et al. 2023). Lalage ir kt. (2023) teigia, kad apie 75 proc. kukurūzų produkcijos yra sunaudojama ne maistui, o biokurui, gyvūnų ir paukščių pašarams, alkoholio gamybai ir kitoms pramoninėms reikmėms. Lietuvoje kukurūzai dažniausiai auginami siloso ir grūdainio gamybai, tačiau paskutiniu metu dažniau pradėti auginti ir grūdams. Per pastarąjį dešimtmetį kukurūzų produkcija Lietuvoje jau padidėjo nuo 78,8 iki 99,8 tūkst. tonų, o bendrai visame pasaulyje pastebimas 14,39 proc. padidėjimas (FAOSTAT 2023; Oficialiosios statistikos portalas 2023).

Miežiai (*Hordeum vulgare L.*) – grūdiniai javai, svarbūs įvairiais aspektais. Tai taip pat labai adaptyvus augalas, kuris gali būti auginamas vietovėse, kurios dėl klimato ir dirvožemio sąlygų mažiau tinkamos kitoms javų rūšims (Larsson, Leino, and Hagenblad 2021). Miežiai šiuo metu yra ketvirtoje vietoje pagal labiausiai auginamas kultūras. Jie dažnai yra naudojami kaip baltymų ir energijos šaltinis mėsiniams galvijams ir kiaulėms, taip pat naudojami paukščių lesalams (Abewaw 2021; Badea et al. 2021). Nustatyta, kad dygimas padidina mėsiniams viščiukams skirtų miežių grūdų turimos energijos kiekį (Black et al. 2022). Maisto pramonėje jie naudojami salyklui alaus pramonėje, duonai, troškiniams, sriuboms ir sveikuoliškiems produktams gaminti (Badea et al. 2021; Perera et al. 2022). Lietuvoje miežiai dažniausiai auginami pašarams ir salyklui. Pasaulyje per paskutiniuosius 10 metų miežių derlius išaugo 8,85 proc., tačiau Lietuvoje Oficialiosios Statistikos Portalo duomenimis derlius sumažėjo nuo 752 iki 383 tūkst. tonų (FAOSTAT 2023; Oficialiosios statistikos portalas 2023).

1.2. Kukurūzų ir miežių grūdų technologinės savybės ir cheminė sudėtis

Kukurūzų grūdų cheminei sudėčiai įtakos gali turėti įvairūs veiksniai, pavyzdžiui, vabzdžių antplūdis, džiovinimo būdai, augimo sąlygos ir hibridų savybės. Riebalų kiekis kukurūzų grūduose gali svyruoti nuo 2,8 iki 3,9 proc., baltymų nuo 6,7 iki 9,9 proc., o krakmolo kiekis paprastai būna didžiausias - nuo 70,3 iki 72,0 proc. (Liubych 2020). Kukurūzų grūduose gausu karotinoidų, kurie žmonių ir gyvūnų organizme paverčiami vitaminu A, tai padeda apsaugoti nuo regos problemų, tokių kaip vištakumas, kseroftalmija, ragenos opos ar pažeidimai (Faustino et al. 2016; Trono 2019). Nors ir nedideliais kiekiais, tačiau kukurūzuose taip pat aptinkama ir įvairių mineralinių medžiagų tokių kaip Fe, Zn, bei vitaminų B6 ir B9. Šios medžiagos svarbios gaminant eritrocitus, svarbioms imuniteto funkcijoms palaikyti, DNR sintezėje, dalyvaujant baltymų, angliavandenių ir riebalų metabolizmo procesuose (Stathers et al. 2020; Szulc et al. 2022).

Atlikti tyrimai rodo, kad cheminės sudėties skirtumus gali lemti tam tikri genetiniai skirtumai - kukurūzų grūdų tipas ir spalva (Oas and Adams 2022; Subrin et al. 2022). Sausros kukurūzų auginimo metu taip pat turi įtakos. Kinijoje atliktas tyrimas parodė, kad sausra sėjimo ir dygimo metu lemia didesnę derlių, taip pat didesnę baltymų ir riebalų kiekį, o sausros žydėjimo ir burbuolės siūlų pasirodymo laikotarpiu lemia mažesnę derlių, taip pat didesnę baltymų kiekį, tačiau mažesnę riebalų kiekį (Bi et al. 2019). Kiti mokslininkai pastebi, kad krituliai taip pat neatsiejamas dalykas nuo cheminės sudėties – esant nepakankamam drėkinimui didėja krakmolo ir mažėja riebalų, o drėkinimas reikšmingai padidina K, Mg, Fe, Mn ir Zn kiekius, tačiau sumažina Ca kiekį (Kresović et al. 2018).

Pavėlintas derliaus nuėmimo laikas taip pat gali turėti įtakos kukurūzų grūdų maistinei vertei. Kai kurie tyrėjai pastebėjo pokyčius dėl vėlesnio derliaus nuėmimo laiko (Seleiman et al. 2017; Wojcieszak et al. 2020; Zhao et al. 2023). Pastebima, kad labiau subrendę kukurūzų grūdai turi didesnę krakmolo ir virškinamos organinės masės, tačiau mažesnę pelenų, žalių baltymų ir VTA kiekį (Seleiman et al. 2017). Viename iš mokslinių straipsnių teigiama, jog norint gauti didesnę ir geresnę kokybę derlių, kukurūzų grūdai turėtų būti nuimami lauko dehidratacijos metu. Taip pat geresnį, aukštesnę kokybę derlių lemia vėlesnis derliaus nuėmimas - po fiziologinės brandos, esant santykinai mažam drėgnumui grūduose. Taigi vėlesnis derliaus nuėmimas po fiziologinės brandos esant lauko dehidratacijai yra svarbus techninis metodas, padedantis pagerinti efektyvią aukštos kokybės kukurūzų gamybą (Zhao et al. 2023). Tačiau kito tyrimo metu pastebėta, kad kukurūzų grūduose esant vėlesniam derliaus nuėmimui reikšmingai sumažėja mineralinių medžiagų, tokių kaip Ca, Na, Ca, Mg, kiekiai (Wojcieszak et al. 2020).

Cheminė miežių grūdų sudėtis skirtingose miežių veislėse gali skirtis, todėl skiriasi jų virškinimo efektyvumas (Yang et al. 2018). Miežių grūduose gausu skaidulinių medžiagų ir antioksidantų, pavyzdžiui, fenolinių junginių, kurie prisideda prie jų didelės maistinės vertės. Miežių grūdai taip pat yra ir geras nesočiųjų riebalų rūgščių ir karotinoidų šaltinis, kurie turi įvairių sveikatai naudingų savybių (Nowak et al. 2023). Palyginti su kitomis grūdinėmis kultūromis, miežių grūduose ypač daug maistinių skaidulų, įskaitant β -gliukaną, kuris, kaip įrodyta, apsaugo nuo hipertenzijos, širdies ir kraujagyslių ligų ir diabeto (Geng et al. 2022). Miežių grūduose baltymų kiekis sudaro 10,0–12,8 proc., krakmolo kiekis apie 60 proc., riebalų kiekis 1,9–2,6 proc., pelenų kiekis 2,0–2,5 proc., ląstelienos kiekis 4,0–5,7 proc. (Deme, Tessema, and Gari 2019; Sinkovič et al. 2023). Kiekis svyruoja priklausomai nuo veislės ir genotipo, ūkininkavimo sistemos bei meteorologinių sąlygų (Li et al. 2021; Nowak et al. 2023).

Krakmolo kiekis ir sandara miežių grūduose yra glaudžiai susijusi su derliumi, todėl buvo atlikti tyrimai, kuriais siekta nustatyti genus arba lokusus, kontroliuojančius miežių grūdų krakmolo savybes. Tyrimo metu buvo aptikti 4 genai kandidatai, kurie pasižymėjo didele raiška besivystančiuose miežių grūduose, kai sparčiai kaupėsi krakmolas (Li et al. 2021). Salyklinės veislės paprastai turi didesnę krakmolo kiekį ir mažesnę baltymų kiekį (Deme et al. 2019). Ekologiškai auginamuose miežių grūduose yra didesnis fenolinių junginių, karotinoidų ir antioksidantų kiekis, palyginti su įprastai auginamais miežių grūdais (Nowak et al. 2023). Cheminei sudėčiai įtakos gali turėti ir meteorologinės sąlygos. Miežių grūdai, kai miežiai augo esant vėsesnėms oro temperatūroms turėjo didesnę pelenų kiekį, lyginant su grūdais, kai miežiai augo aukštesnės temperatūros klimato zonose (Kim et al. 2022). Karščio sukeltas stresas gali lemti sumažėjusį krakmolo kiekį ir padidėjusį mineralinių medžiagų kiekį (Ben Mariem et al. 2021). Kiti mokslininkai teigia, jog sausra, aukšta temperatūra, bei didesnis azoto kiekis dirvožemyje, gali padidinti baltymų kiekį grūduose. Miežių grūdai, kurių baltymų kiekis yra didesnis nei 12,5 proc. paprastai yra nenaudojami salyklo gamyboje ir realizuojami kaip pašariniai grūdai (Izydorczyk et al. 2021).

Kai kuriuose tyrimuose pastebima, kad mitybinės vertės rodikliams įtakos gali turėti ir mikotoksinų koncentracijos. Jungtinės Karalystės mokslininkai pastebi teigiamas koreliacijas tarp $AFL_{B1+B2+G1+G2}$ koncentracijų ir sausosios medžiagos praradimo kukurūzų grūduose (Garcia-Cela et al. 2019). Atliekant tyrimus su kviečiais Lietuvoje pastebėtos DON, T-2 ir ZEA neigiamos koreliacijos su hektolitru, klampumu ir kritimo skaičiumi, tačiau su kitais mitybinės vertės rodikliais fiksuojamos tik pavienės neigiamos koreliacijos (Kochiieru et al. 2021).

1.3. Grūdų užsikrėtimas mikroskopiniais grybais ir užterštumas mikotoksinais

Grūdinės kultūros dažnai yra mikroskopinių grybų infekcijų taikynys. *Aspergillus*, *Penicillium*, *Monascus* ir *Fusarium* spp. grybų rūšys gamina mikotoksinus, tokius kaip AFL, OTA, DON, ZEA, CIT ir kt., kurie kelia didelį susirūpinimą visame pasaulyje (Carbas et al. 2021; He and Cox 2016; Pei et al. 2022; Zingales et al. 2022). Tačiau vienas svarbiausių mikotoksinų šaltinių yra *Fusarium* spp. grybai. Tokios rūšys kaip *F. graminearum* ir *F. culmorum* daugiausia gamina B tipo trichotecenus: DON, 3-ADON ir 15-ADON, o rūšys kaip *F. langsethiae*, *F. poae*, *F. equiseti* ir *F. sporotrichioides* daugiausia gamina A tipo trichotecenus: T-2 ir HT-2 (Bertero et al. 2018; Janić Hajnal et al. 2023). Tyrimai rodo, kad DON galima aptikti beveik pusėje tirtų mėginių, o kukurūzai yra vieni iš pasėlių, kuriuose DON koncentracija yra didžiausia. Taip pat reikėtų surinkti daugiau informacijos apie 3-ADON ir 15-ADON, kad būtų geriau suprantamas jų ir DON bendras poveikis organizmui (EFSA 2013). Skatinama toliau rinkti ir analitinius duomenis apie T-2 ir HT-2 atitinkamuose maisto ir pašarų produktuose, ypatingą dėmesį skiriant atskirų toksinų analizei tame pačiame mėginyje (EFSA et al. 2017).

Vartojant grūdus, kurie yra stipriai užsiteršę mikotoksinais, žmonėms ir gyvūnams gali pasireikšti lėtinės, ūminės ligos ar net mirtis (Ekwomadu, Akinola, and Mwanza 2021). Mikotoksinais gali turėti kancerogeninį, mutageninį, teratogeninį, hepatotoksinį ir estrogeninį poveikį žmonėms ir gyvūnams (Khodaei, Javanmardi, and Khaneghah 2021). Skirtingi mikotoksinais pažeidžia skirtingas organų grupes. Pastebima, kad *Fusarium* spp. ir *Aspergillus* spp. gaminami mikotoksinais (DON, ZEA, AFL_{B1}) melžiamų karvių racione, gali turėti neigiamos įtakos somatinių ląstelių skaičiui, kraujo rodikliams ir imunitetui (Jovaišiene et al. 2016). DON, 3-ADON ir 15-ADON pažeidžia virškinamojo trakto barjerą ir sumažėja apetitas, gali pasireikšti vėmimas, viduriavimas (Patriarca and Fernández Pinto 2017). ZEA sukelia hormoninius sutrikimus – vaikingumo metu sumažėja embriono išgyvenamumas, blogėja spermos kokybė, ZEA gali patekti ir į pieninių galvijų pieną, kurį vėliau vartoja žmonės (Patriarca and Fernández Pinto 2017; Vila-Donat et al. 2018). AFL jautriausias yra kiaulės ir vištos – apsinuodijus pastebimi kepenų ir žarnyno pažeidimai, didėja nugaišusių vištų kiekis (Adeyeye 2020; Weaver et al. 2013). T-2, HT-2 lemia augimo sulėtėjimą, apsinuodijus toksiškai veikia raumenis ir kraują, o kontaktuojant gali sukelti sepsį (Agriopoulou et al. 2020). OTA ir CIT gali pažeisti DNR ir sukelti vėžinius susirgimus, taip pat pažeidžia inkstus, nervų ir imuninę sistemas (Agriopoulou et al. 2020; EFSA 2012a; P. Li et al. 2020; Patriarca and Fernández Pinto 2017). Manoma, kad MON gali veikti kardiotoksiškai, sukelti kvėpavimo sutrikimus, taip pat pastebimas sinerginis veikimas kartu su DON ir FUM_{B1} ir FUM_{B2} (Bojana et al. 2022; Fremy et al. 2019). Taip pat dėl galimo sinerginio poveikio atkreipiamas dėmesys ir į ENN – jie gali sukelti virškinamojo trakto sutrikimus, pažeisti kepenis ir susilpninti imunitetą (Gautier, Pinson-Gadais, and

Richard-Forget 2020; Křížová et al. 2021). Tačiau tuo pačiu tiriamas ir potencialus jų antibakterinis, fungicidinis, herbicidinis ir insekticidinis poveikis (Firáková, Proksa, and Sturdíkova 2007; Prosperini et al. 2017).

Kadangi smarkiai užkrėsti grūdai nėra tinkami vartoti, o tokių grūdų detoksikacija ir (arba) nukenksminimas yra pasaulinė problema (praktiniu ir moksliniu požiūriu), ji taip pat gali sukelti didelius ekonominius nuostolius (Agriopoulou et al. 2020). Todėl Europos Komisija nustatė didžiausias leistinas tam tikrų mikotoksinų koncentracijas maiste ir pašaruose (European Commission 2006, 2013, 2023; European Parliament 2002). Rekomendacinio pobūdžio DON, ZEA, OTA, T-2 ir HT-2 mikotoksinų koncentracijų ribos bei direktyvoje skelbiamos maksimalios AFL_{B1} koncentracijų ribos gyvūnų pašaruose pateiktos 1 lentelėje. Vis dar nėra paskelbtų rekomenduojamų CIT koncentracijų gyvūnams, o didžiausios 3-ADON ir 15-ADON koncentracijos nenurodomos nei žmonių maiste, nei gyvūnų pašaruose. Europos maisto ir saugos tarnyba (EFSA et al. 2019) DON ir jo derivatų (3-ADON, 15-ADON, D3G) sumai paskelbė didžiausią toleruojamą paros koncentraciją, kuri siekia 1 µg kg⁻¹ kūno svorio per dieną. Dėl mokslinės informacijos trūkumo CIT buvo nustatyta riba siekianti 0,2 µg kg⁻¹ kūno svorio per dieną (EFSA 2012b).

1 lentelė. Rekomenduojamos DON, ZEA, OTA, T-2, HT-2 ir Direktyvoje skelbiamos AFL_{B1} maksimalios koncentracijų ribos, 12 proc. drėgnumo pašaruose.

Table 1. The guidance values for DON, ZEA, OTA, T-2, HT-2 and the Directive's maximum values for AFL_{B1} relative to a feed with a moisture content of 12 %.

Mikotoksinas / Mycotoxin	Gyvūnų pašarams skirti produktai / Products intended for animal feed	Koncentracija / Concentration, µ kg⁻¹
Deoksinivalenolis / Deoxynivalenol	— Grūdai ir grūdų produktai, išskyrus šalutinius kukurūzų produktus / <i>Cereals and cereal products with the exception of maize by-products</i>	8000
	— Šalutiniai kukurūzų produktai / <i>Maize by-products</i>	12000
Zearalenonas / Zearalenone	— Grūdai ir grūdų produktai, išskyrus šalutinius kukurūzų produktus / <i>Cereals and cereal products with the exception of maize by-products</i>	2000
	— Šalutiniai kukurūzų produktai / <i>Maize by-products</i>	3000
Ochratoksinas A / Ochratoxin A	— Grūdai ir grūdų produktai / <i>Cereals and cereal products</i>	250
Fumonizinas B1 + B2 / <i>Fumonisin B1 + B2</i>	— Kukurūzai ir kukurūzų produktai / <i>maize and maize products</i>	2000
Aflatoksinas B1 / Aflatoxin B1	Pašarinės žaliavos	50
T-2 + HT-2	— Kiti grūdų produktai / <i>Other cereal products</i>	500
	— Kombinuotieji pašarai, išskyrus ėdalą katėms / <i>Compound feed, with the exception of feed for cats</i>	250

Žinoma, kad gera žemės ūkio ir sandėliavimo praktika gali sumažinti pelėsių vystymąsi bei taršą mikotoksinais (Perrone et al. 2020). Pastebima, kad žemės dirbimo sistema gali turėti įtakos mikotoksinų koncentracijoms. Mokslininkai Lietuvoje pastebi, kad taikant bearimą žemdirbystės sistemą, kvietrūgiuose DON ir ZEA koncentracijos buvo bent 3 kartus didesnės, nei taikant įprastą žemdirbystės sistemą (Baliukonienė et al. 2011). Atkreipiamas dėmesys ir į kiekvienai augalo rūšiai tinkamo derliaus nuėmimo laiko pasirinkimą, bei mechaninius augalų pažeidimus vegetacijos metu (Edwards and Jennings 2018; Kochiieru et al. 2020). Taip pat labai svarbu tinkama augalų priežiūra apsaugant juos nuo kenkėjų, o sandėliavimo metu užtikrinant tinkamą apsaugą nuo vabzdžių ir graužikų, drėgmę, temperatūrą ir sandėliavimo laikotarpį iki kol grūdai pradeda gesti (Mannaa and Kim 2017). Todėl labai svarbu nuolat stebėti ir vertinti sąlygas, galinčias padidinti mikotoksinų koncentracijas bei jų vengti (Janić Hajnal et al. 2023).

Iš pašarų pašalinti susidariusius mikotoksinius labai sudėtinga ir mokslininkai ieško galimų sprendimo būdų (Mavrommatis et al. 2021). Esant nedideliam užterštumui gali padėti tam tikri fiziniai metodai, tokie kaip plovimas, malimas, pašalinių dalelių ar labiau pažeistų grūdų atskyrimas (Neme and Mohammed 2017). Taip pat šiek tiek sumažinti koncentracijas gali padėti terminis apdorojimas (kepinimas, skrudinimas), o kai kurių mikotoksinų koncentracijas mažina švitinimas ultravioletiniais ir gama spinduliais, tačiau dėl didelės įrenginių kainos ir saugumo reikalavimų, susijusių su tokių įrenginių naudojimu, šios priemonės nebuvo pradėtos naudoti reguliariai. (Calado, Venâncio, and Abrunhosa 2014; Faraji, Yazdi, and Razmi 2022; Karlovsky et al. 2016). Mokslininkai bando įvairias chemines, biologines priemones ir pašarų priedus, kurie galėtų sumažinti mikotoksinų koncentracijas (Abd-Elsalam et al. 2017; Wu et al. 2017; Zhu et al. 2016), tačiau dažnai naudojant įvairias priemones pasikeičia grūdų juslinės savybės (Karlovsky et al. 2016).

1.4. Aplinkos sąlygų reikšmė mikotoksinų koncentracijų pokyčiui

Grūdinės kultūros dažnai yra mikroskopinių grybų infekcijų taikynys. Infekcijos gali pasireikšti vegetacijos metu arba po derliaus nuėmimo, taip pat sandėliavimo ir transportavimo metu, o užsikrėtimas mikroskopiniais grybais lemia ir mikotoksinų susidarymą (Eskola et al. 2020; Janavičienė et al. 2022; Kos et al. 2020). Didelę įtaką vegetacijos metu turi vabzdžiai, kurie maitindamiesi augalais pažeidžia audinius, o pažeistos vietos gali lengvai užsikrėsti mikroskopiniais grybais (Miedaner and Juroszek 2021). Kai kurioms mikroskopinių grybų rūšims daugintis ir plisti reikia tropinio/subtropinio klimato regionų, o kitos gali augti ir gaminti mikotoksinius vidutinio klimato regionuose (Zingales et al. 2022). Tačiau yra manoma, kad dėl klimato atšilimo šiaurės Europoje gali paplisti regionui nebūdingi kenksmingi ir naudingi vabzdžiai bei organizmai, kurie prisitaikę gyventi esant šiltesnėms meteorologinėms sąlygoms

(Hakala et al. 2011; Miedaner and Juroszek 2021). Klimato kaita gali lemti ir mikotoksikogeninių mikroskopinių grybų geografinio paplitimo pasikeitimą ir besiformuojančių mikotoksinų kokybinius bei kiekybinius pokyčius (Zingales et al. 2022). Taip pat tikėtina, kad dėl padidėjusio klimato sąlygų nepastovumo, padidės ir mikotoksinų susikaupimo tikimybė po derliaus nuėmimo, lauke ir sandėliuose (FAO 2020).

Tyrimai rodo, kad genetika taip pat turi labai daug įtakos mikroskopinių grybų paplitimui ir mikotoksinų produkavimui. Pastebima, kad didelė prieš mikroskopinius grybus veikiančio nepentezino 1 geno raiška miežių grūduose lemia sumažėjusius varpų fuzariozės atvejus (Bekalu et al. 2020). *Fusarium* spp. užsikrėtimo skirtumus tarp veislių pastebi ir Vokietijos mokslininkai vertindami skirtingo genotipo vasarinius miežius ir susiejo su didesnėmis DON, 3-ADON ir 15-ADON koncentracijomis, tačiau nepastebėjo reikšmingų skirtumų tarp genotipų vertindami ZEA ir NIV koncentracijas (Hoheneder et al. 2022). Lygiai taip pat išryškėjo ir skirtingas kukurūzų hibridų atsparumas *Fusarium* spp. grybams ir reikšmingos koreliacijos su DON, tačiau vertinant FUM_{B1} ir FUM_{B2} reikšmingų koreliacijų su stipriau užsikrėtusiais kukurūzų grūdais nepastebėta (Mesterhazy et al. 2020).

Mokslininkai pastebi, kad nepalankios aplinkos sąlygos (temperatūra, drėgmė, sausra ir krituliai) gali turėti įtakos grūdų užsikrėtimui mikroskopiniais grybais ir mikotoksinais (Kos et al. 2020). Serbijoje pastebėta, kad kukurūzų vegetacijos laikotarpiu esant ekstremaliam kritulių kiekiui visuose kukurūzų grūdų mėginiuose buvo aptikta DON bei ZEA ir jo derivatai (Kos et al. 2020). Šiltesnėse klimato zonose ypač atkreipiamas dėmesys, jog dėl didesnio kritulių kiekio ir žemesnės temperatūros prieš derliaus nuėmimą bei esant pavėluotam kukurūzų derliaus nuėmimui, būdingas didesnis *Fusarium* spp. kiekis ir padidėjęs užterštumas mikotoksinais (da Costa et al. 2018; Kaaya et al. 2005; Leggieri et al. 2019). Mūsų regione vis dar trūksta informacijos apie pavėlinto derliaus nuėmimo laiko įtaką kukurūzų ir miežių grūdų užterštumui, tačiau pastebima, kad vėlinant kviečių derliaus nuėmimą DON, T-2 ir ZEA koncentracijos didėja (Edwards and Jennings 2018; Kochiieru et al. 2021).

Pasitaikius sukėlėjui palankioms meteorologinėms sąlygoms kukurūzų pasėliuose gali išplisti pūslėtosios kūlės. Pūslėtasias kūles sukelia bazidiomicetinis grybas *Ustilago maydis* (Frommer, Veres, and Radócz 2018). Tai paplitęs biotrofinis fitopatogeninis grybas, kuris gali pasireikšti visose augalo dalyse, sudarydamas teliosporų pripildytas pūsleles (Yu et al. 2023). Pūslėtųjų kūlių plitimui įtakos turi nepalankios meteorologinės sąlygos, tokios kaip aukšta temperatūra ir sausros, žiedadulkių išbarstymo ir burbuolės siūlų pasirodymo laikotarpiu. Liga taip pat intensyviau plinta, kai jauni audiniai pažeidžiami mechaninių pažeidimų, pvz., vėjo ar krušos (Kelly, McLaughlin, and Zuchelli 2023; Szulc et al. 2020). Dėl šios ligos gali sutrikti

augalų vystymasis ir sumažėti produkcija, o ekonominiai nuostoliai siekti iki 10 proc. (Frommer et al. 2018; Yu et al. 2023).

Atsižvelgiant į skirtingą kukurūzų hibridų atsparumą, rekomenduojama pirmenybę teikti mažiau jautriems hibridams, kad pasėliai būtų veiksmingai apsaugoti (Radócz et al. 2023). Manoma, kad atsparumas *U. maydis* yra kiekybinis požymis, kuriam įtaką daro daugybė, genų sukeliama, nedidelių efektų. Tačiau konkretūs genai ir sudėtingi mechanizmai, lemiantys kukurūzų atsparumą *U. maydis*, iš esmės nėra apibūdinti (Ruan et al. 2021). Todėl nemažai pastangų skiriama naujų hibridų, pasižyminčių didesniu atsparumu, kūrimui ir tuo pačiu metu nepamirštama ir esamų hibridų, galinčių turėti didesnę atsparumą, identifikavimo svarba (Pathi et al. 2020). Nėra cheminių apsaugos priemonių galinčių padėti nuo užsikrėtimo pūslėtosiomis kūlėmis. Apsisaugoti galima tik naudojant netiesiogines priemones – vengiant mechaninio augalų pažeidimo, nepertęšiant azotu (Szóke et al. 2021). Taip pat patariama sėti laukuose, kur anksčiau nepasitaikė pūslėtųjų kūlių arba kuri laiką nesėti kukurūzų tame pačiame lauke, jei prieš tai augę kukurūzai buvo užsikrėtę. Jei kukurūzų auginama nedaug, pastebėjus pūsleles jas galima pašalinti rankomis, kol jos dar yra nedidelės ir nepagaminusios sporų. Be to, sumažinti užsikrėtimų skaičių gali padėti ir gilus žemės dirbimas, kai dalis sporų užkasamos giliau ir todėl nebegali užkrėsti augalo (Hasan et al. 2018).

U. maydis negamina pavojingų metabolitų, tačiau ant kukurūzų burbuolių esančios kūlių pūslės pažeidžia kukurūzų grūdų lukšto vientisumą ir sudaro sąlygas kitiems grybams užkrėsti sveikus grūdus (Abbas et al. 2015; Kelly et al. 2023). Naujesniuose tyrimuose pastebėta, jog mikotoksikogeniniai grybai gali kolonizuoti pačias pūslėtųjų kūlių pūsles ir užteršti jas mikotoksinais (Anggreini and Rahmadhini 2020). Kiti tyrėjai teigia, kad mikotoksinų įvairiais kiekiais galima aptikti ir konservuotose kūlių pūslėse, kurios skirtos žmonių vartojimui (Abbas et al. 2017). Mat kai kuriose šalyse, pavyzdžiui, Meksikoje, jos laikomos delikatesu ir svarbiu baltymų (~12 proc.) šaltiniu, turinčiu keletą pavadinimų: "kukurūzinis grybas", "kukurūzų triufelis", "cuitlachoche" ir "huitlachoche" (Aydoğdu and Gölükçü 2017; Jing et al. 2022).

1.5. Grūdų sandėliavimo reikšmė mikotoksinų koncentracijų pokyčiui

Pastangos kontroliuoti maisto produktų užterštumą mikotoksinais turėtų apimti visą pramonę - nuo žemės ūkio praktikos iki stalo (Ji et al. 2022). Atanda ir kt. (2011) teigia, kad 10–40 °C temperatūroje laikant didesnio nei 13 proc. drėgnumo grūdus gali padidėti jų užterštumas mikotoksinais. Tiriant AFL sumos koncentracijų pokyčius kukurūzuose reikšmingas padidėjimas natūraliai užsikrėtusiuose grūduose pastebimas jau po 11 dienų sandėliavimo, tačiau tik laikant esant 0,95 vandens aktyvumui ir laikant 25–35°C (Garcia-Cela et al. 2019). Tačiau kukurūzų grūdų sandėliavimo reikšmė kitų mikotoksinų koncentracijoms sandėliuojant ilgesnį laiką mažai tyrinėta,

daugiau dėmesio skirta kitų grūdinių kultūrų tyrinėjimui. Pastebima, jog 6 savaites sandėliuojant avižas 8 °C esant 80 proc. santykinei drėgmei gali reikšmingai sumažinti T-2 ir HT-2 koncentracijas (Janavičienė et al. 2022). Sandėliuojant kviečių grūdus pastebima, kad po 2 mėnesių sandėliavimo DON ir 3-ADON koncentracijos reikšmingai mažėja, o 15-ADON didėja (Janavičienė, Mankevičienė, and Kochiieru 2020). Kitą vertus 20 ir 28 °C temperatūroje 28 dienas sandėliuojant kviečių grūdus, kuriuose vizualiai pastebimas didesnis nei 1 proc. pažeidimas *Fusarium spp.* grybais DON koncentracija reikšmingai didėjo (Mankevičienė et al. 2019). Vertinant miežių ir kviečių grūdų užterštumą mikroskopiniais grybais Lietuvos ūkių sandėliuose pastebėta, kad didžiausias užterštumas vyrauja mažesnių ūkių saugyklose (Baliukonienė and Bakutis 2002). Sandėliavimo patalpos yra svarbūs kontrolės taškai, kurie turėtų būti nuolat vertinami, siekiant užtikrinti gerą žemės ūkio produktų vertę, o išsamios informacijos apie kukurūzų grūdų laikymą ir su tuo susijusią mikotoksinų taršos riziką vis dar trūksta (Phokane et al. 2019).

Kukurūzai ir vasariniai miežiai yra vieni labiausiai auginamų grūdinių kultūrų visame pasaulyje, turintys svarbią ekonominę ir maistinę reikšmę. Jie dažnai naudojami gyvūnų pašarams, biokurui, maisto produktų gamybai ir net chemijos pramonėje. Ne tik grūdų sudėtis, tačiau ir užsikrėtimas *Fusarium spp.*, o tuo pačiu ir užterštumas mikotoksinais gali labai skirtis priklausomai nuo genetinių veiksnių, augimo sąlygų ir derliaus nuėmimo laiko, bei sandėliavimo sąlygų. O tai tiesiogiai veikia grūdų maistinę vertę ir jų galimą panaudojimą. Todėl labai svarbu naudoti tinkamus žemės ūkio praktikos metodus, siekiant sumažinti užterštumo mikotoksinais riziką ir užtikrinti saugų grūdų vartojimą. Tai ypač svarbu, kai grūdai naudojami maisto gamybai ir gyvūnų pašarams, nes didelės mikotoksinų koncentracijos gali sukelti rimtus sveikatos sutrikimus.

2. TYRIMO METODIKA IR SĄLYGOS

2.1. Lauko eksperimentai

Kukurūzų ir miežių lauko eksperimentai atlikti LAMMC ŽI Augalų patologijos ir apsaugos skyriaus eksperimentiniuose laukuose 2020-2022 m. Iš viso buvo surinkti 142 vasarinių miežių ir kukurūzų grūdų mėginiai. Atliktas dviejų veiksmų lauko eksperimentas. Skirtingo derliaus nuėmimo laiko tyrimams pasirinkti plačiausiai šiuo metu auginami 2 kukurūzų hibridai grūdams su skirtingu FAO skaičiumi ir 2 skirtingos paprastųjų miežių veislės. Buvo naudojami *Lapriora* bei *Duxxbury* kukurūzų hibridai ir *Luokė* bei *Laureate* miežių veislės. *Duxxbury* hibrido FAO skaičius 170, *Lapriora* hibrido 190. Abu hibridai skirti grūdams, tačiau skirtingas FOA skaičius rodo hibrido ankstyvumą – mažesnis skaičius rodo ankstyvesnį hibrido subrendimą. *Luokė* miežių veislė yra pašarinė, o *Laureate* veislė salykinė, tačiau abi veislės pasižymi vidutiniu vegetacijos periodu (*Luokė* 88 dienos, *Laureate* 88,8 dienos). Salykinės veislės įprastai turi didesnę krakmolo ir mažesnę baltymų kiekį. Eksperimentiniai laukeliai buvo 2,5 m pločio ir 10 m ilgio. Kiekvienam derliaus nuėmimo etapui kukurūzų ir miežių grūdai buvo pasėti 4 pakartojimais, išdėstytais atsitiktine tvarka.

Derliaus nuėmimas buvo vykdomas 3 etapai: kukurūzams pasiekus fiziologinę brandą, miežiams pasiekus kietąją brandą, 10 (± 2) dienų po I derliaus nuėmimo ir 20 (± 2) dienų po I derliaus nuėmimo (2 lentelė). Miežių grūdų derlius buvo nuimamas naudojant kombainus, kukurūzų burbuolės buvo skinamos rankomis.

Tręšimas, augalų apsaugos priemonių naudojimas buvo atliekamas remiantis analizuojamų augalų auginimo rekomendacijomis.

Kukurūzų priešėliai: 2020 metais žieminiai kviečiai, 2021 metais vasariniai miežiai, 2022 metais kukurūzai. Kukurūzų laukai 3 savaitės prieš sėją buvo tręšiami NPK 6-18-34 500 kg ha⁻¹ ir amonio salietra 300 kg ha⁻¹ ir birželio mėnesio viduryje amonio salietra 235 kg ha⁻¹. Piktžolėms kukurūzuose naikinti, praėjus mėnesiui po sėjos, purkšta herbicidu ESTET® 600 EC (veiklioji medžiaga (v. m.) 2,4 D rūgštis 600 g L⁻¹) 0,6 ha⁻¹ ir pakartotinai po dviejų savaičių Nicogan® (v. m. nikosulfuronas 40 g L⁻¹) 0,75 l ha⁻¹ (BBCH 13-19).

2 lentelė. Miežių ir kukurūzų grūdų derliaus nuėmimo laikai 2020–2022 metais

Table 2. Barley and maize grain harvesting time in 2020–2022

Metai / Years	Rūšis / Type of plant	I derliaus nuėmimas / 1st harvest	II derliaus nuėmimas / 2nd harvest	III derliaus nuėmimas / 3rd harvest
2020	Kukurūzai / Maize	2020 10 05 Fiziologinė branda* / Physiological maturity*	2020 10 15 Fiziologinė branda +10 dienų / Physiological maturity +10 days	2020 10 26 Fiziologinė branda + 21 diena / Physiological maturity + 21 days
	Miežiai / Barley	2020 08 15 Kietoji branda** / Hard maturity**	2020 08 25 Kietoji branda + 10 dienų / Hard maturity +10 days	2020 09 05 Kietoji branda + 21 diena / Hard maturity +21 days
2021	Kukurūzai / Maize	2021 10 08 Fiziologinė branda* / Physiological maturity*	2021 10 18 Fiziologinė branda +10 dienų / Physiological maturity +10 days	2021 10 28 Fiziologinė branda + 20 dienų / Physiological maturity + 20 days
	Miežiai / Barley	2021 08 01 Kietoji branda** / Hard maturity**	2021 08 11 Kietoji branda + 10 dienų / Hard maturity +10 days	2021 08 19 Kietoji branda + 18 dienų / Hard maturity +18 days
2022	Kukurūzai / Maize	2022 10 04 Fiziologinė branda* / Physiological maturity*	2022 10 14 Fiziologinė branda +10 dienų / Physiological maturity +10 days	2022 10 24 Fiziologinė branda + 20 dienų / Physiological maturity + 20 days
	Miežiai / Barley	2022 08 12 Kietoji branda** / Hard maturity**	2022 08 21 Kietoji branda + 9 dienos / Hard maturity +9 days	2022 09 03 Kietoji branda + 22 dienos / Hard maturity +22 days

Pastaba. * kukurūzams, kai grūdo prisitvirtinimo vietoje juoda dėmelė arba taškas ir 60 proc. SM BBCH 87 (Bundessortenamt 2022) / for maize, with a black spot or dot at the point of attachment of the kernel and 60 % of dry matter BBCH 87 **derliaus nuėmimo laikas BBCH 89 / harvest time BBCH 89

Miežių priešsėliai: 2020 metais žieminiai kviečiai, 2021 metais žirniai, 2022 metais žieminiai rapsai. Miežių laukai prieš sėją buvo tręšiami 2020 ir 2021 metais NPK 6-18-34 400kg ha⁻¹, o 2022 metais NPK 5-20,5-36 350 kg ha⁻¹ ir amonio salietra 200 kg ha⁻¹. Savaitė po sėjos amonio salietra 150 kg ha⁻¹ ir herbicidai Biathlon® 4D (v. m. 714 g kg⁻¹ tritosulfurono + 54 g kg⁻¹ florasulamo) 55g ha⁻¹ + MCPA Super (v. m. MCPA 500 g l⁻¹) 0,7-1 l ha⁻¹ + paviršiaus aktyvioji medžiaga Dassoil™ (2020-2021 metais 99,6 proc. alkylfenol alkoksilat) 0,5 l ha⁻¹, 2022 metais Dash® (metiloleato ir oleino rūgšties mišinys) 0,5 l ha⁻¹. Praėjus savaitei augimo regulatorius Moxa® arba Moddus (v. m. trineksapak-etilas 250 g l⁻¹) 0,4 l ha⁻¹. Birželio viduryje tręšiama amonio salietra N50. Insekticidai: 2020 metais birželio 15 d. Proteus® OD (v. m. tiaklopridas 100 g l⁻¹ ir deltametrinas 10 g l⁻¹) 0,75 l ha⁻¹, 2021 metais birželio 11 d. Bulldock® 025 EC (beta-ciflutrinis 25 g l⁻¹) 0,3 l ha⁻¹, 2022 metais birželio 27 d. Kaiso 50 EG (v. m. cihalotrinis 50 g kg⁻¹) 1,2 l ha⁻¹. Fungicidai: 2020 metais birželio 17 d. Elatus Era (v. m. benzovindiflupiras 75 g l⁻¹ (7,43 proc.) + protiokonazolas 150 g l⁻¹ (14,87 proc.)) 1 l ha⁻¹, 2021 metais birželio 30 d. Input ® (v. m. protiokonazolas 160 g l⁻¹ ir spiroksaminas 300 g l⁻¹) 1 l ha⁻¹, 2022 metais birželio 27 d. Ascra Xpro ® (v. m. biksafenas 65 g l⁻¹ (6,37 proc.), fluopiramas 65 g l⁻¹ (6,37 proc.), protiokonazolas 130 g l⁻¹ (12,75 proc.)) 1,2 l ha⁻¹.

Lauko eksperimentai buvo atliekami siekiant įgyvendinti 1–4 uždavinius, atliekant 5 uždavinį kukurūzų grūdų mėginiai buvo surinkti iš skirtingų Lietuvos regionų, tuomet sandėliuojami ir analizuojami.

2.2. Laboratoriniai eksperimentai

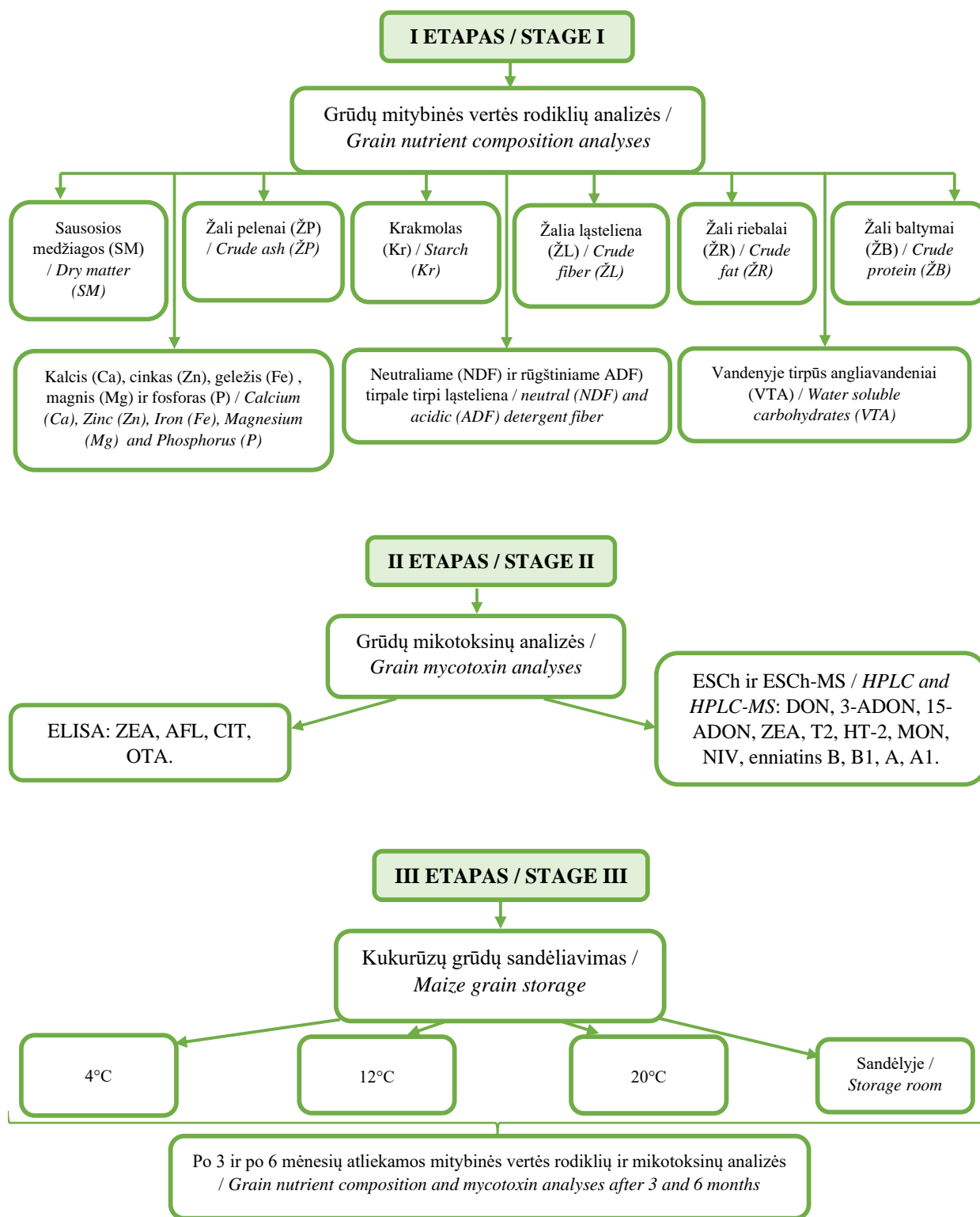
Drėgnis grūduose buvo nustatytas po derliaus nuėmimo ir prieš analizes (Infratec 1214, FOSS). Drėgnis kukurūzų ir miežių grūduose skirtingais derliaus nuėmimo laikais ir prieš atliekant laboratorines analizes pateiktas 3 lentelėje. Pasiekus apie 13 proc. drėgnį, grūdai buvo užšaldomi sandariuose induose -20 °C temperatūroje iki laboratorinių analizių. Prieš analizes grūdai buvo sumalami naudojant Ultra Centrifugal Mill ZM 200 (Retsch, Haan, Vokietija).

3 lentelė. Miežių ir kukurūzų grūdų drėgnis derliaus nuėmimo metu ir prieš analizes 2020–2022 metais

Table 3. Moisture content of barley and maize grain at harvest and before analyses in 2020–2022

Veislė/ Hibridas / Variety/ Hybrid	Derliaus nuėmimas / Harvest	Grūdų drėgnis / grain moisture, %					
		Derliaus nuėmimo metu / At harvest	Prieš analizes / Before analyses	Derliaus nuėmimo metu / At harvest	Prieš analizes / Before analyses	Derliaus nuėmimo metu / At harvest	Prieš analizes / Before analyses
		2020		2021		2022	
<i>Miežiai / Barley</i>							
<i>Laureate</i>	I	16,05	12,90	14,35	12,58	18,25	11,91
	II	19,03	13,42	21,50	11,18	18,23	11,38
	III	20,78	12,73	24,35	10,95	15,00	11,37
<i>Luokė</i>	I	14,48	11,60	13,68	12,38	17,45	11,93
	II	17,95	12,77	21,25	11,35	18,28	11,14
	III	20,23	13,33	24,35	11,25	14,45	11,28
<i>Kukurūzai / Maize</i>							
<i>Duxxbury</i>	I	30,98	12,77	36,13	14,77	35,73	13,90
	II	30,10	12,39	36,35	12,66	38,00	13,03
	III	29,40	10,98	33,48	12,39	30,53	12,01
<i>Lapriora</i>	I	30,50	12,42	32,75	13,78	36,00	13,53
	II	30,18	12,38	31,73	12,21	35,15	13,69
	III	28,28	11,15	30,48	11,58	31,48	12,38

Tyrimas buvo atliekamas remiantis 1 paveiksle pateikiama eksperimentų schema. Laboratorinės analizės buvo suskirstytos į 3 etapus: mitybinės vertės rodiklių tyrimai, mikotoksinų tyrimai, sandėliavimo bandymas.



1 pav. Laboratorinių analizių etapai
Fig. 1. Stages of laboratory analyses

2.3. Miežių ir kukurūzų grūdų mitybinės vertės rodiklių tyrimai

Miežių ir kukurūzų grūduose buvo nustatyti mitybinės vertės rodikliai. Sausosios medžiagos (SM) nustatytos 105 °C temperatūroje džiovinant iki pastovios masės. Žali baltymai (ŽB) Kjeldalio metodu LST EN ISO 5983-1:2005. Žali riebalai (ŽR) Soksleto ekstrakcijos metodu. Žali pelenai (ŽP) svorio (gravimetriniu) metodu. Žalia ląsteliena (ŽL) gravimetriniu ir pamatiniu metodu LST EN ISO 16472:2006. Krakmolas poliarimetriniu metodu LST EN ISO 10520:2000. Kalcio, cinko, geležies ir magnio kiekiai atomų absorbcinės spektrometrijos metodu pagal Perkin-Elmer, AAnalyst 200 (Analytical Methods for AAS, 1996). Fosforo kiekis spektrofotometriniu metodu (Butkute et al. 2013). Kukurūzų grūduose taip pat buvo nustatyta neutraliame ir rūgštiniame tirpale tirpi ląsteliena (NDF, ADF) Van Soest metodu (Faithfull 2002). Vandenyje tirpūs angliavandeniai (VTA) naudojant antrono reagentą (Yemm and Willis 1954).

2.4. Mikotoksinų nustatymas efektyviosios skysčių chromatografijos metodu

2.4.1 Laboratorinės priemonės ir įranga mikotoksinų nustatymui

Kukurūzų grūduose DON, 3-ADON, 15-ADON, T-2 ir HT-2 2020 ir 2021 metais buvo nustatyti naudojant efektyviosios skysčių chromatografijos (ESCh) sistemą Shimadzu prominence LC-20A, su UV ir FLD detektoriais; chromatografijos kolonėlė YMC – Pack Pro C18/ S-3 μm / 12 nm, kolonėlės dydis 150x4.0 mm, Japonija; analitinės svarstyklės, 10-3 g tikslumo, Explorer Ohaus, Vokietija; analitinės svarstyklės, 10-6 g tikslumo, Sartorius ME36S-OCE, Vokietija; laboratorinis malūnas RETSCH® ZM200; purtyklė, Reax Contro Heidolph, Vokietija; kratyklė HS 501 digital IKA® – WERKE, Vokietija; rotacinis garintuvas IKA RV 06-ML 2-B su reguliuojama vakuumo sistema, Vokietija; automatinė vakuumo sistema, 12 vietų su stoveliu, Visiprep SPE Vacuum Manifold, USA; imuninio giminingumo kolonėlės; gofruotas filtrinis popierius, Friseneuve, Nr. 204F (porų dydis 12–15 μm); stiklo pluošto filtrinis popierius, Friseneuve, Nr. GC (porų dydis 1,2 μm); stikliniai laboratoriniai indai; mikropipetės 20–200 μl ; 1000–5000 μl ; 5000–10000 μl . Duomenys įvertinti naudojant kompiuterinę programą LCsolution LC/GC, 5.42 versija (Shimadzu).

Kukurūzų grūduose 2022 metais ir miežių grūduose 2020–2022 metais DON, 3-ADON ir 15-ADON, T-2, HT-2 ir ZEA koncentracijos, o miežių grūduose papildomai MON, NIV ir ENN B, B1, A, A1 koncentracijos nustatytos stažuotės metu Latvijos „BIOR“ institute naudojant UltiMate 3000 ESCh sistemą sujungtą su "Thermo TSQ Quantiva" trigubo kvadrupolio masės spektrometru (Waltham, MA, JAV). Jonų stebėjimui buvo naudojamas teigiamų ir neigiamų jonų režimas, o masės įvertinimui naudotas pasirinktų reakcijų stebėjimo režimas. Prietaiso parametruose buvo nustatyta 2,5 kV įtampa neigiamų jonų režimui ir 3,5 kV teigiamų jonų

režimui, 300 °C jonų perdavimo temperatūra, 350 °C garintuvo temperatūra. Mikotoksinų atskyrimui naudota "Phenomenex Luna C18" atvirkštinės fazės analitinė kolonėlė (150 × 2,0 mm, 3 μm). Nustatyta 40 °C kolonėlės temperatūra, mėginys laikytas 4 °C temperatūroje, mėginio injekcijos tūris – 25 μl. Duomenims apdoroti naudotos programinės įrangos Xcalibur™ ir TraceFinder.

2.4.2. Naudoti reagentai

Bendro naudojimo reagentai: acetonitrilas (ACN), CH₃CN, HPLC 99,9 proc. Sigma-Aldrich (Vokietija); metanolis, CH₃OH, HPLC 99,9 proc. Sigma-Aldrich (Vokietija); dejonizuotas vanduo (18,2 mΩcm⁻¹), pagamintas „Millipore“ (JAV) vandens valymo sistema;

DON ir jo metabolitų (3-ADON, 15-ADON) kalibracinių grafikų ir mėginių paruošimui naudojami reagentai: deoksinivalenolio standartas kristaliniame pavidale, AppliChem, Vokietija; polietileno glikolis (Polyethylene glycol 8000) AppliChem, Vokietija;

T-2 ir HT-2 kalibracinių grafikų ir mėginių paruošimui naudojami reagentai: T-2/HT-2 standartas 1 mg ml⁻¹, Sigma-Aldrich, JAV; 1-antroilnitrilas (1-anthroynitrile (1-AN)); 4-dimetilamino piridinas (4-dimethylamino-pyridine (DMAP)); natrio chloridas (Sodium chloride) Emsure®, Sigma-Aldrich, Vokietija.

2.4.3. Mėginių paruošimas

T-2/HT-2 mėginių paruošimas, kai naudojama Shimadzu prominence ESCh sistema. Analitinėmis svarstyklėmis (Explorer Ohaus, Vokietija) pasveriami 50 ± 0,001 g mėginio ir 1 ± 0,001 g NaCl, įpilama 200 ± 1 ml MeOH:H₂O (70:30 v/v) tirpalo bei purtoma 2 min purtytuve 300 aps/min greičiu (Reax Contro, Heidolph, Vokietija). Mėginys filtruojamas per greitos filtracijos gofruotą filtravimo popierių, skiedžiamas imant 10 ml ± 0,1 ml mėginio ir 40 ± 0,1 ml dejonizuoto vandens, perfiltruojamas stiklo pluošto filtru. Mėginio ekstrakcijai paruošiama imunoafinės ekstrakcijos kolonėlė ir vakuuminė filtravimo sistema (Visiprep SPE Vacuum Manifold, USA). Ekstrakcija atliekama dviem pakartojimais, pagal imuninių kolonėlių gamintojų pateiktą instrukciją.

DON, 3-ADON ir 15-ADON mėginių paruošimas, kai naudojamas Shimadzu prominence ESCh sistema. Analitinėmis svarstyklėmis (Explorer Ohaus, Vokietija) pasveriami 10 g ± 0,001 g mėginio ir 2 g ± 0,001 g polietileno glikolio, įpilama 40 ml ± 1 ml dejonizuoto vandens bei purtoma 300 aps/min 2 min purtyklėje (Reax Contro, Heidolph, Vokietija). Mėginys filtruojamas per greitos filtracijos gofruotą filtravimo popierių ir perfiltruojamas stiklo pluošto filtru. Mėginio ekstrakcijai paruošiama imunoafinės ekstrakcijos kolonėlė ir vakuuminė filtravimo sistema

(Visiprep SPE Vacuum Manifold, USA). Ekstrakcija atliekama dviem pakartojimais, pagal imuninių kolonėlių gamintojų pateiktą instrukciją.

T-2, HT-2, DON, 3-ADON ir 15-ADON sumos, ZEA, MON, NIV ir ENN B, B1, A, A1 mėginių paruošimas, kai naudojama UltiMate 3000 ESCh sistema sujungtą su "Thermo TSQ Quantiva" trigubo kvadrupolio masės spektrometru. Pasveriami $2,5 \pm 0,01$ g sumalto mėginio ir sudedama į 50 ml PP mėgintuvėlį, įpilama 20 μ l skruzdžių rūgšties, 10 ml ACN ir 10 ml dejonizuoto vandens mišinio ir maišoma 10 min mechaniniu maišytuvu. Tuomet į mėgintuvėlį įpilamas specialus QuEChERS druskų mišinys ir vėl maišoma 10 min mechaniniu maišytuvu. Išmaišytas mėginys 10 min centrifuguojamas kambario temperatūroje 4000 aps/min greičiu. Ekstraktas nupilamas į 15 ml PP mėgintuvėlį ir 15 min patalpinamas į -80 °C temperatūros šaldymo kamerą. Iš karto po to ekstraktas 10 minučių centrifuguojamas 10 °C temperatūroje 4000 aps/min. Po centrifugavimo 3 ml ekstrakto dalis buvo perpilta į 15 ml PP mėgintuvėlį ir išgarinta 50 °C temperatūroje purškiant azotu iki išdžiūvimo. Į išdžiovintą mėgintuvėlį įpilama 100 μ l 0,1 proc. skruzdžių rūgšties, ACN ir dejonizuoto vandens (1:1) mišinio ir 10 minučių kratoma Vortex maišytuvu. Išmaišius įpilama 250 μ l 0,1 proc. vandeninės skruzdžių rūgšties ir 10 min filtruojama per 0,22 μ m PVDF filtrą centrifuguojant kambario temperatūroje 3000 apsukų per minutę greičiu. Po centrifugavimo 200 μ l kiekvieno mėginio pipete buvo perkelta į stiklinius buteliukus skirtus chromatografinėi sistemai.

2.4.3. Standartinių tirpalų paruošimas

T-2 ir HT-2 standartinių tirpalų paruošimas

Pirminio standartinio tirpalo paruošimui iš 1 mg ml^{-1} T-2 ir HT-2 standartinių tirpalų (Sigma-Aldrich, praskiedžiam 1:10 santykiu su ACN skirtu ESCh, gauname $100 \mu\text{g ml}^{-1}$ T-2 arba HT-2 tirpalą.

Tiksli pradinio standartinio tirpalo koncentracija nustatoma spektrofotometru (2 kartus), kurio bangos ilgio intervalas 200–280 nm. Matavimui naudojamos 10 mm kvarcinės kiuvetės. E_{max} 218 nm.

DON, 3-ADON ir 15-ADON standartinių tirpalų paruošimas

Grynų mikotoksinų standartų kristaliniame pavidale (5 mg) ištirpinama 100 ml ACN (skirtas ESCh). Gaunama tirpalo koncentracija apie $50 \mu\text{g ml}^{-1}$.

Paruošiami trys skirtingi pirminiai standartiniai tirpalai DON, 3-ADON, 15-ADON. Kiekvieno mikotoksino tirpalo koncentracija apie $50 \mu\text{g ml}^{-1}$. Tiksli pradinio standartinio tirpalo

koncentracija nustatoma spektrofotometru (2 kartus), kurio bangos ilgio intervalas 200–280 nm. Matavimui naudojamos 10 mm kvarcinės kiuvetės. E_{\max} 218 nm.

2.4.4. Standartinių tirpalų paruošimas

T-2 ir HT-2 kalibracinių tirpalų paruošimas, kai naudojama Schimadzu prominence ESCh sistema. Iš pirminio $100 \mu\text{g ml}^{-1}$ T-2 arba HT-2 tirpalo imama $20 \mu\text{l}$ T-2 arba HT-2 tirpalo. Išgarinama naudojant rotacinį garintuvą. Įpilama po $50 \mu\text{l}$ ($0,325 \text{ mg ml}^{-1}$) DMAP ir ($0,3 \text{ mg ml}^{-1}$) 1-An. Maišoma 1 minutę, tuomet buteliukas perkeliamas inkubaciniam periodui (15 min) $50 \text{ }^\circ\text{C}$ temperatūroje. Vėliau 10 minučių buteliukas aušinamas ir laikomas ant ledo. Išgarinama iki sausumo $50 \text{ }^\circ\text{C}$ temperatūroje rotaciniu garintuvu. Į mėginį įpilama 1,4 ACN, palaikoma 5 minutes, maišoma 1 minutę, tuomet įpilama dar $600 \mu\text{l}$ dejonizuoto vandens ir išmaišoma. Į mėginį įpilama dar $700 \mu\text{l}$ ACN ir $300 \mu\text{l}$ dejonizuoto vandens ir sumaišoma. Taip gaunamas $1 \mu\text{g ml}^{-1}$ standartas, iš kurio skiedimo būdu pridedant 7:3 ACN ir H₂O mišinio gaunami $0,5 \mu\text{g ml}^{-1}$, $0,25 \mu\text{g ml}^{-1}$, $0,1 \mu\text{g ml}^{-1}$, $0,05 \mu\text{g ml}^{-1}$, $0,025 \mu\text{g ml}^{-1}$ mikotoksinų tirpalai. Naudojant kalibracines kreives apskaičiuota žemiausia aptikimo riba (LOD) – T-2 (LOD = 15), HT-2 (LOD = 19).

DON, 3-ADON ir 15-ADON kalibracinių tirpalų paruošimas, kai naudojama Schimadzu prominence ESCh sistema. Penki mililitrai (5 ml) pirminio standartinio tirpalo įpilame į 50 ml matavimo kolbą. ACN išgarinamas prapučiant azoto dujomis. Liekana ištirpinama dejonizuotame vandenyje. Tame tirpale turi būti $5 \mu\text{g ml}^{-1}$ mikotoksino. Tikslī koncentracija nustatoma spektrofotometru (kaip ir pirminio standartinio tirpalo). Imame 20 ml, 10 ml, 5 ml. Įpilame į 50 ml matavimo kolbą ir tirpiname dejonizuotame vandenyje. Taip pat imame 5 ml ir 2 ml. Jie supilami į 100 ml matavimo kolbas ir skiedžiame dejonizuotame vandenyje. Gaunami $2,0 \mu\text{g ml}^{-1}$, $1,0 \mu\text{g ml}^{-1}$, $0,5 \mu\text{g ml}^{-1}$, $0,25 \mu\text{g ml}^{-1}$, $0,1 \mu\text{g ml}^{-1}$ mikotoksinų tirpalai. Tikslī šių tirpalų koncentracija nustatoma spektrofotometru. Naudojant kalibracines kreives apskaičiuota LOD – DON (LOD = 37), 3-ADON (LOD = 19), 15-ADON (LOD = 19).

T-2, HT-2, DON, 3-ADON ir 15-ADON sumos, ZEA, MON, NIV ir ENN B, B1, A, A1 kalibracinių tirpalų paruošimas, kai naudojama UltiMate 3000 ESCh sistema sujungta su "Thermo TSQ Quantiva" trigubo kvadrupolio masės spektrometru. Siekiant gauti mažesnes koncentracijas atitinkamas standarto kiekis buvo skiedžiamas su ACN. Tuomet praskiestas standartinio tirpalo skirtingi kiekiai su pipete lašinami tiesiai į stiklinius buteliukus skirtus chromatografinėi sistemai ir išgarinami $50 \text{ }^\circ\text{C}$ temperatūroje purškiant azotu iki išdžiūvimo. Tuomet įpilama $200 \mu\text{l}$ 0,1 proc. vandeninės skruzdžių rūgšties. DON, MON ir ENN B, B1, A ir A1 paruošiami standartiniai tirpalai su 10, 50, 100, 250 ir $500 \mu\text{g kg}^{-1}$ koncentracijomis, 3-ADON ir 15-ADON sumai, T-2, HT-2 su 10, 20, 50, 100 ir $200 \mu\text{g kg}^{-1}$, ZEA 100, 250, 500, 750 ir $1000 \mu\text{g kg}^{-1}$, o NIV 10, 25,

50, 100, 200. Naudojant kalibracines kreives apskaičiuota LOD – DON (LOD = 48), 3-ADON ir 15-ADON sumai (LOD = 17), T-2 (LOD = 17), HT-2 (LOD = 101), ZEA (LOD = 10), MON (LOD = 0,6), NIV (LOD = 3,9), ENN B (LOD = 3,5), B1 (LOD = 3,0), A (LOD = 1,9) ir A1 (LOD = 1,7).

Kalibracinių kreivių determinacijos koeficientas visais atvejais (r^2) buvo ne mažesnis nei 0,999. Kalibravimo tirpalai gali būti laikomi šaldytuve keletą savaičių.

2.4.5. Kiekybinis apskaičiavimas

Kiekybinis T-2 ir HT-2 apskaičiavimas

T-2 ir HT-2 kiekiai tiriamajame tirpale apskaičiuojami išmatuojant smailių plotus T-2 ir HT-2 pikų sulaikymo metu ir palyginant jį su standartinėmis kreivėmis. Mikotoksinų kiekiui mėginyje apskaičiuoti ($\mu\text{g kg}^{-1}$) naudojama formulė:

$$W_{T-2/HT-2} = P_{T-2/HT-2} \times V_1 \times V_2 / (V_3 \times m_s) \times 5,$$

kur, $P_{T-2/HT-2}$ yra T-2 arba HT-2 koncentracija, nanogramais mililitre, mėginio tirpalo alikvotinėje dalyje, gautoje iš kalibravimo kreivės.

V_1 - tirpiklio, naudojamo ekstrahuojant miežių mėginius, tūris mililitrais.

V_2 - galutinis įpurškto tiriamojo tirpalo (mobilios fazės) tūris mililitrais.

V_3 - ekstrakto alikvotinės dalies tūris mililitrais, naudojamas imuninei kolonėlei.

m_s - analizei paimtos mėginio medžiagos masė gramais.

5 - skiedimo faktorius (mėginys buvo skiestas 5 kartus)

Kiekybinis DON, 3-ADON, 15-ADON apskaičiavimas

DON ir jo darinių kiekiai tiriamajame tirpale apskaičiuojami išmatuojant smailės plotą DON (3-ADON, 15-ADON) pikų sulaikymo metu ir palyginant jį su standartinėmis kreivėmis (Trucksess, Weaver, and White 2010). Mikotoksinų kiekiui mėginyje apskaičiuoti naudojama formulė:

$$W_{DON} = P_{DON} \times V_1 \times V_2 / V_3 \times m_s,$$

kur, P_{DON} yra DON (3-ADON, 15-ADON) koncentracija, mikrogramais mililitre, mėginio tirpalo alikvotinėje dalyje, gautoje iš kalibravimo kreivės.

V_1 - tirpiklio, naudojamo ekstrahuojant kukurūzų grūdų mėginius, tūris mililitrais.

V_2 - galutinis įpurškto tirpalo (mobilios fazės) tūris mililitrais.

V_3 - ekstrakto alikvotinės dalies tūris mililitrais, naudojamas imuninei kolonėlei.

m_s - analizei paimtos mėginio medžiagos masė gramais (LST EN 15891: 2010).

2.4.6. Mikotoksinų nustatymas imunofermentiniu (ELISA) metodu

Kiekybinės AFL_{B1+B2+G1+G2}, ZEA, OTA ir CIT analizės buvo atliktos naudojant komercinius imunofermentinius (ELISA) rinkinius (RIDASCREEN®FAST for AFL Art. No. R5202; ZEA Art. No. R5502; OTA Art. No. R5402; CIT Art. No. R6302). Šis metodas pagrįstas antikūno ir antigeno sąveika ir yra patvirtintas AOAC tyrimų instituto (kokybės valdymo sistema sertifikuota pagal ISO 9001).

Dauguma naudotų reagentų buvo RIDASCREEN tyrimų rinkinyje. AFL sumos, ZEA, OTA, CIT standartiniai tirpalai, kurie buvo naudojami kalibravimo kreivei sudaryti, buvo tokie: AFL sumos – 0, 1,7, 5, 15, 45 ppb ($\mu\text{g kg}^{-1}$); ZEA – 0, 50, 100, 200, 400 ppb ($\mu\text{g kg}^{-1}$); OTA – 0, 1, 3, 10, 30, 100 ppb ($\mu\text{g kg}^{-1}$); CIT – 0, 15, 45, 135, 405 ppb ($\mu\text{g kg}^{-1}$); visi jie įtraukti į ELISA testų rinkinį.

Sumalti mėginiai buvo išmaišomi dėl homogenizacijos. Mikotoksinų ekstrakcija ir tyrimai buvo atliekami pagal gamintojo instrukcijas. Pagal reikalavimus pasveriamas reikiamas mėginio kiekis ir mėginys ekstrahuojamas priklausomai nuo siekiamo nustatyti mikotoksino. AFL_{B1+B2+G1+G2}, ZEA ir CIT mėginiai ekstrahuoti metanolyje ir vandenyje (santykiu 7:3), OTA paruošiamas specialus ECO ekstrakcijos tirpalas iš rinkinyje esančio koncentrato. Tyrimo pagrindas – antigeno ir antikūno reakcija. Naudojant pipetę, mikrotitracinių plokštelių duobutės buvo padengtos kiekvieno mikotoksino antikūnais. Įlašinus mikotoksino standartinį tirpalą arba mėginio tirpalą, antikūnų surišimo vietos buvo užimtos proporcingai pagal mikotoksino koncentraciją. Tuomet buvo lašinamas AFL_{B1+B2+G1+G2}, ZEA, OTA ir CIT fermentų konjugatas ir antikūniai prieš AFL_{B1+B2+G1+G2}, ZEA, OTA ir CIT. Kito etapo metu naudojant distiliuotą vandenį arba specialų buferinį tirpalą atliekamas mikrotitracinės plokštelės duobučių praplovimas ir pašalinamas neprisijungęs konjugatas. Į duobutes įlašinus substrato/chromogeno, prisijungęs konjugatas chromogeną nudažo mėlyna spalva. Įlašinus stabdymo tirpalo, spalva pasikeičia iš mėlynos į geltoną. Mėginių optinis tankis buvo įvertintas daugiakanaliu fotometru Multiskan Ascent (Thermo Electron Corp., Vantaa, Suomija), naudojant 450 nm filtrą. Kiekvieno mikotoksino koncentracija buvo automatiškai apskaičiuota pagal kalibravimo kreives. Determinacijos koeficientas: AFL_{B1+B2+G1+G2} – 0,9990, ZEA – 0,9993, OTA – 0,9827, CIT – 0,9890. Išmatuota absorbcija buvo automatiškai perskaičiuota į mikotoksinų koncentracijos vienetus – $\mu\text{g kg}^{-1}$. Rezultatai buvo apskaičiuoti atsižvelgiant į mažiausią kalibracinės kreivės mikotoksinų koncentracijos vertę (LOD - aptikimo riba), kuri pagal gamintojo metodines rekomendacijas yra: AFL_{B1+B2+G1+G2} – 1,7 $\mu\text{g kg}^{-1}$, ZEA – 17,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$, OTA – 1,3 $\mu\text{g kg}^{-1}$, CIT – 15,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

2.5. Grūdų užsikrėtimo *Fusarium* spp. grybais nustatymas

Vidinei grūdų infekcijai nustatyti buvo naudojamas agarų plokštelių metodas. Grūdų paviršius 3 min. sterilizuotas 1 proc. NaOCl tirpale, tada 100 grūdų iš kiekvieno mėginio buvo pasėta Petri lėkštelėse su bulvių dekstrozės agaru (PDA) ir inkubuota 7 dienas esant 26 ± 2 °C temperatūroje tamsoje (Mathur and Kongsdal 2003). Išaugusios *Fusarium* spp. kolonijos buvo išskirtos ir išgrynintos. Kolonijoms identifikuoti buvo naudojami Nelson ir kt. (1983) bei Leslie ir Summerell vadovai (2006), o optinis mikroskopas Nikon Eclipse E200 (Nikon, Tokijas, Japonija) buvo naudojamas identifikuoti *Fusarium* spp. grybus. Užsikrėtę grūdai buvo apskaičiuoti procentais (0 proc. reiškia visi grūdai buvo sveiki; 100 % – visi grūdai buvo užsikrėtę).

2.6. Kukurūzų užsikrėtimo *U. maydis* nustatymas

Užsikrėtimas *U. maydis* buvo įvertintas prieš I derliaus nuėmimą. Vertinama suskaičiuojant sergančias ir sveikas kukurūzų burbuoles penkiose atsitiktinai parinktose 2 m ilgio eilutėse atskirai kiekviename hibride (EPPO 2021). Apžiūrint burbuoles vertinama ar yra vizualiai matomas pažeidimas pūslėtosiomis kūlėmis. Per visą tyrimo laikotarpį užsikrėtimas pūslėtosiomis kūlėmis buvo pastebėta tik 2021 metais, tuo tarpu 2020 ir 2022 metais kukurūzų burbuolės nebuvo užkrėtos. Todėl, siekiant įvertinti pūslėtųjų kūlių įtaką mikotoksinų koncentracijoms, 2021 metais po I derliaus nuėmimo burbuolės buvo suskirstytos į keturias skirtingas grupes: sveikos, vizualiai užsikrėtusios *Fusarium* spp., vizualiai užsikrėtusios pūslėtosiomis kūlėmis ir vizualiai užsikrėtusios abiem patogenais burbuolės. Pūslėtosiomis kūlėmis užsikrėtusios burbuolės turėjo aiškiai pastebimas pilkos spalvos pūsles, pripildytas juodos spalvos sporų, o *Fusarium* spp. užsikrėtusios burbuolės turėjo ant grūdų paviršiaus išplitusį nuo baltos iki rausvos spalvos pelėsį. Kiekviena grupė turėjo po keturis pakartojimus. Grūdai buvo išdžiovinti sumalti ir atliktos mikotoksinų analizės.

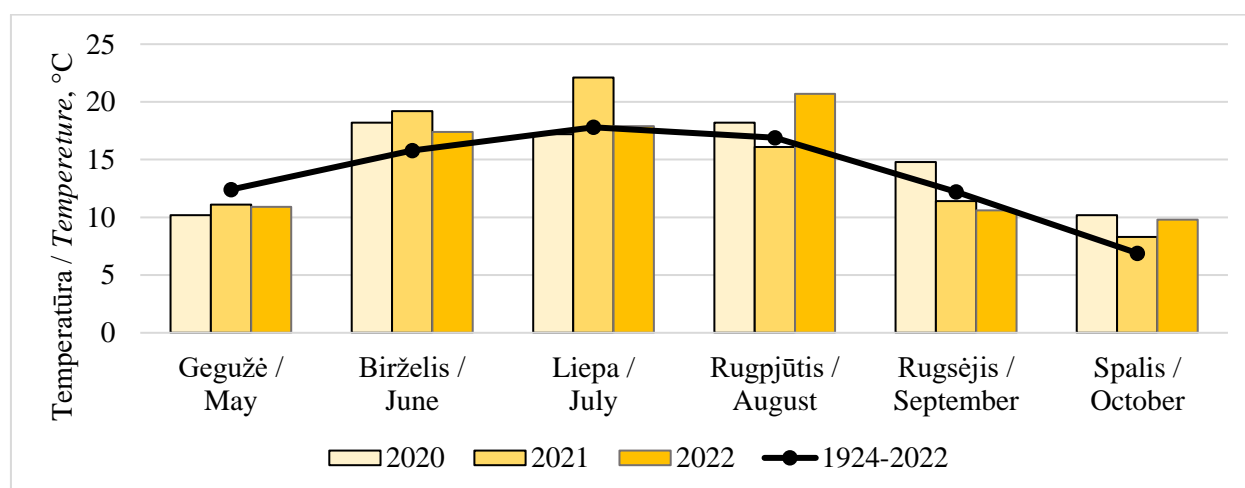
2.7. Meteorologinės sąlygos tyrimo metais

Miežių ir kukurūzų vegetacijos sezono pradžioje 2020 metais, gegužės mėnesį, temperatūra buvo žemesnė nei vidutinė daugiametė (2 pav.). Birželio mėnesį, buvo karščiau, nei įprastai, tačiau, kitais mėnesiais temperatūra buvo artima daugiametei. Didesnis nei daugiametis vidutinis kritulių kiekis taip pat pastebimas birželio mėnesį, tačiau kitais mėnesiais jis buvo

panašus į daugiamečių (3 pav.). Kukurūzų vegetacijos pabaigoje rugsėjo ir spalio mėnesiais buvo šilčiau nei įprastai, rugsėjis pasižymėjo mažu kritulių kiekiu, o spalį didesniu.

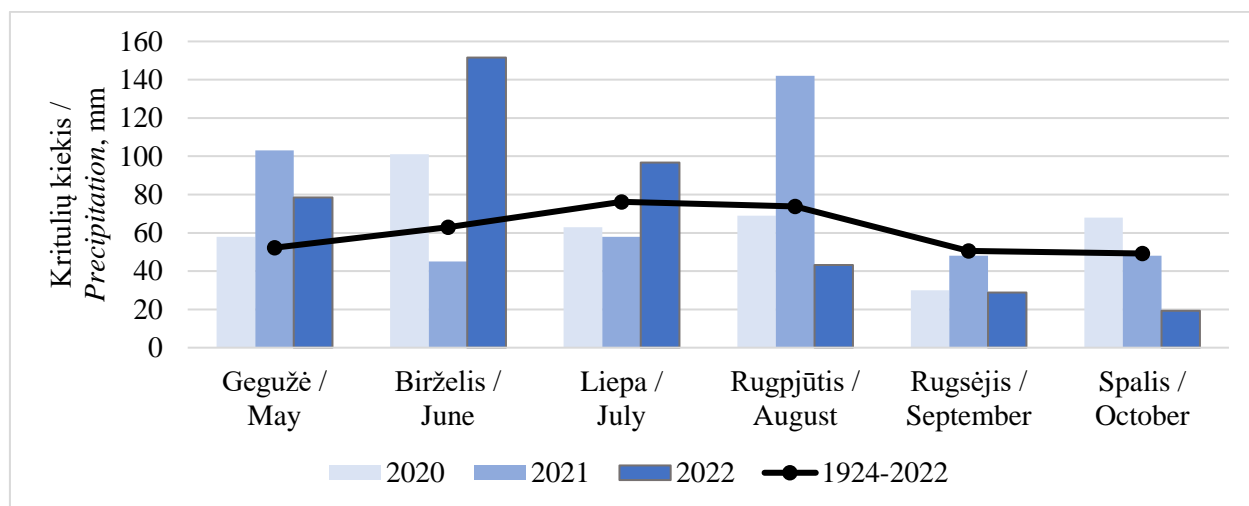
Antri tyrimo metai (2021) buvo išskirtiniai, nors miežių ir kukurūzų vegetacijos pradžioje temperatūra buvo žemesnė, nei daugiamečių, tačiau birželio ir liepos mėnesiais gerokai viršijo daugiamečių vidurkį. Tais pačiais metais pastebimas ir gerokai mažesnis nei daugiamečių kritulių kiekis. Taigi miežių žydėjimo ir kukurūzų žydėjimo, bei burbuolės siūlų išsiskleidimo laikotarpiu vyravo sausi ir šilti orai. Miežių derliaus nuėmimo metu vyravo drėgnesni ir vėsesni orai lyginant su 2020 ir 2022 metais. Kukurūzų derliaus nuėmimo laikotarpiu lyginant su kitais tyrimo metais taip pat pastebima, kad laikotarpis buvo vėsesnis ir drėgnesnis nei 2020 ir 2022 metais.

Temperatūra kukurūzų ir miežių vegetacijos sezono pradžioje 2022 metais, gegužės mėnesį, kaip ir kiekvienais tyrimo metais buvo žemesnė nei daugiamečių vidutinė temperatūra. Birželį ir liepą temperatūra buvo artima daugiamečių vidutinei, o kritulių kiekis nuo gegužės iki liepos mėnesio buvo gerokai didesnis nei įprastai. Miežių ir kukurūzų derliaus nuėmimo metu, rugpjūčio ir spalio mėnesiais kritulių kiekis buvo mažesnis, o temperatūra aukštesnė nei įprastai.



2 pav. Bendra mėnesio oro temperatūra 2020–2022 metais vegetacijos laikotarpiu ir vidutinė daugiamečių (1924–2022) mėnesio temperatūra

Fig. 2. The total monthly air temperature during the 2020–2022 growing seasons and the long-term average (1924–2022)



3 pav. Mėnesio kritulių kiekis 2020–2022 metais vegetacijos laikotarpiu ir vidutinis daugiamečių (1924–2022) mėnesio kritulių kiekis

Fig. 3. The total monthly precipitation during the 2020–2022 growing seasons and the long-term average (1924–2022)

2.8. Sandėliavimo eksperimentas

Kukurūzų mėginiai surinkti 2019 metais iš penkių skirtingų Lietuvos regionų: Šakių, Kėdainių, Radviliškio, Pasvalio ir Plungės rajonų. Saugyklos buvo pasirinktos pagal regioną ir kukurūzo hibridą – pasirinkti hibridai skirti grūdams. Visi grūdų mėginiai buvo imami pagal standartines procedūras (European Commission 2009). Pavieniai mėginiai buvo imami iš penkių skirtingų atsitiktinai pasirinktų saugyklos vietų iš karto po to, kai grūdai po derliaus nuėmimo buvo sudėti į saugyklą. Visi pavieniai mėginiai buvo sumaišyti į vieną bendrą mėginį (apie 4 kg). Galutinis mėginys (apie 500 g) buvo pagamintas iš homogenizuoto jungtinio mėginio. Visi mėginiai buvo išdžiovinti iki ~13 % ir 6 mėnesius laikyti popieriniuose maišeliuose 4 °C, 12 °C ir 20 °C temperatūroje pastovios temperatūros inkubatoriuose ir sandėlyje, kuriame aplinkos sąlygos buvo kintančios (4 lentelė). Sąlygos buvo pasirinktos, kad apimtų platų galimų svyravimų spektrą vidutinio klimato regionuose ir suteiktų trūkstamos mokslinės informacijos šioje srityje. Grūdų mitybinės vertės rodiklių ir mikotoksinų tyrimai buvo atlikti eksperimento pradžioje, o vėliau – po 3 ir 6 mėnesių laikymo.

4 lentelė. Kukurūzų grūdų sandėliavimo sąlygos (temperatūra T°C ir drėgnis H%).

Table 4. Maize grains storage conditions (temperature T°C and humidity H%).

Sandėliavimo sąlygos / Storage conditions		Eksperimento laikotarpis / Experimental period	Vidurkis / Mean
Vieta / Place	Parametrai / Parameters	2020 11 18 – 2021 05 18	
Sandėlis (sąlygos kinta priklausomai nuo lauko sąlygų) / Storage room (depends on outdoor conditions)	T°C	2,3–11,8	5,7
	H%	54–86	73
Termostatas Binder / Binder thermostat	T°C	19,1–20,9	19,9
	H%	22–49	37,6
Šaldytuvas / Refrigerator	T°C	3,0–5,4	4,0
	H%	29–70	44
Termostatas Binder / Binder thermostat	T°C	11,9–12,5	12,1
	H%	44–75	58

2.9. Statistinės analizės metodai

Statistinė analizė atlikta naudojant IBM SPSS Statistics (IBM Inc., Armonk, NY, JAV) ir Excel (Microsoft, JAV). Reikšmingi skirtumai tarp vidurkių vertinant mitybinės vertės rodiklius, užsikrėtimą *Fusarium* spp. grybais ir mikotoksinų koncentracijas apskaičiuoti naudojant vienos krypties ANOVA (Duncan's post hoc testas). Siekiant įvertinti bendrą abiejų veiksnių (veislės/hibrido ir derliaus nuėmimo laiko) poveikį mitybinės vertės rodiklių, bei mikotoksinų koncentracijų pokyčiams atlikta dviejų krypčių ANOVA. Skirtumai tarp miežių veislių ir kukurūzų hibridų apskaičiuoti naudojant Stjudento T-testą. Rezultatai lentelėse pateikiami tokia forma „vidurkis ± standartinis nuokrypis“. Nustatant koreliacijas tarp *Fusarium* spp. grybų ir mikotoksinų koncentracijų bei tarp mitybinės vertės rodiklių ir mikotoksinų koncentracijų buvo naudojamas Pirsono koreliacijos koeficientas. Reikšmingų skirtumų patikimumas „p“ nurodomas skliausteliuose.

3. TYRIMO REZULTATAI IR APTARIMAS

3.1. Veislės/hibrido bei derliaus nuėmimo vėlinimo įtaka grūdų mitybinės vertės rodikliams

3.1.1. Miežių grūdai

Mitybinės vertės rodikliai (SM, ŽB, ŽR, ŽL, ŽP, Kr) nustatyti skirtingų veislių miežių grūduose pateikti 5 lentelėje. Tos pačios veislės grūduose lyginant mitybinės vertės rodiklių skirtumus tarp metų pastebima, kad 2020 metais SM kiekis abiejų veislių grūduose buvo reikšmingai mažesnis nei 2021 ir 2022 metais ($P < 0,001$), tačiau Kr kiekis *Laureate* veislės grūduose buvo reikšmingai didesnis nei 2022 metais ($P < 0,05$) ir reikšmingai nesiskyrė nuo 2021 metų, o *Luokė* veislės grūduose 2020 metais Kr kiekis buvo reikšmingai didesnis nei vėlesniais tyrimo laikotarpio metais ($P < 0,001$). Didžiausias ŽB kiekis abiejų veislių grūduose nustatytas 2021 metais, o mažiausias 2022 metais ($P < 0,01$). Taip pat 2021 metais *Laureate* veislės grūduose pastebėtas ir reikšmingai didesnis ŽR kiekis ($P < 0,01$). Tuo tarpu *Luokė* veislės grūduose 2021 metais ŽR kiekis buvo didesnis tik lyginant su 2022 metais ($P < 0,001$). Reikšmingai didesnis ŽL kiekis buvo nustatytas tik *Laureate* veislės grūduose 2020 metais ($P < 0,05$). Lyginant su 2020 ir 2021 tyrimo metais *Luokė* veislės grūduose 2022 metais buvo nustatytas reikšmingai didesnis ŽP kiekis ($P < 0,01$), o *Laureate* veislės grūduose didesnis ŽP kiekis buvo nustatytas tik lyginant su 2021 metais ($P < 0,001$).

5 lentelė. Sausų medžiagų (SM), žalių baltymų (ŽB), žalių riebalų (ŽR), žalios ląstelienos (ŽL), žalių pelenų (ŽP) ir krakmolo (Kr) kiekis skirtingų veislių miežių grūduose 2020–2022 metais.

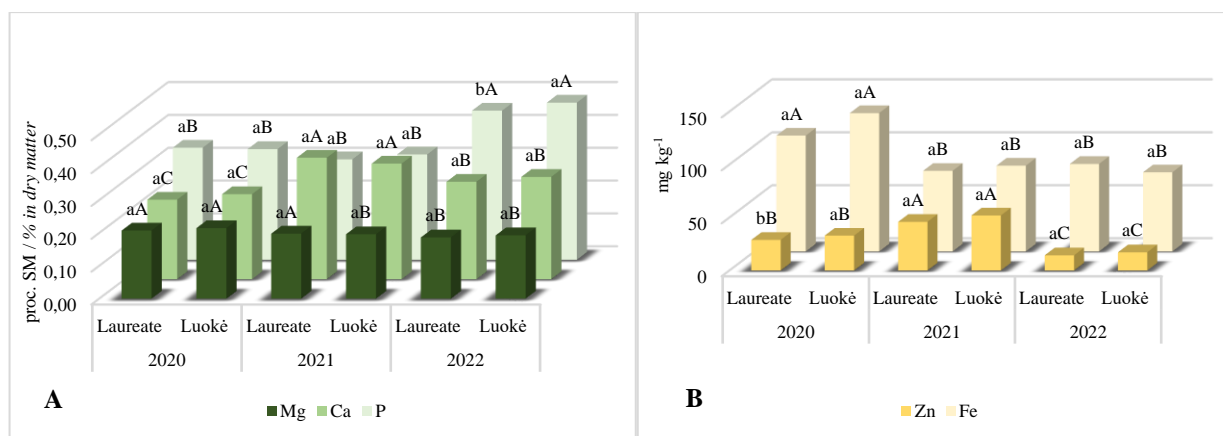
Table 5. Dry matter (SM), crude protein (ŽB), crude fat (ŽR), crude fiber (ŽL), crude ash (ŽP) and starch (Kr) contents in different varieties of barley grains in 2020–2022.

Metai / Year	Veislė / Variety	SM, %	ŽB	ŽR	ŽL	ŽP	Kr
			% SM				
2020	<i>Laureate</i>	87,0 ^{ab} ± 0,4	11,7 ^{ab} ± 0,5	2,4 ^{ab} ± 0,1	6,2 ^{aA} ± 1,1	2,3 ^{aA} ± 0,4	62,4 ^{aA} ± 2,6
	<i>Luokė</i>	87,4 ^{ab} ± 0,8	11,6 ^{ab} ± 0,6	2,5 ^{aA} ± 0,1	6,2 ^{aA} ± 0,7	2,3 ^{ab} ± 0,2	61,1 ^{aA} ± 2,4
2021	<i>Laureate</i>	88,3 ^{aA} ± 0,8	12,9 ^{ba} ± 0,4	2,8 ^{aA} ± 0,5	5,4 ^{bb} ± 0,4	1,9 ^{ab} ± 0,2	61,1 ^{aAB} ± 1,0
	<i>Luokė</i>	88,3 ^{aA} ± 0,6	13,5 ^{aA} ± 0,7	2,8 ^{aA} ± 0,7	6,7 ^{aA} ± 0,6	1,9 ^{aC} ± 0,2	57,1 ^{bb} ± 2,0
2022	<i>Laureate</i>	88,5 ^{aA} ± 0,3	10,2 ^{bc} ± 0,4	1,8 ^{aC} ± 0,4	5,3 ^{bb} ± 0,9	2,5 ^{aA} ± 0,2	60,6 ^{ab} ± 1,6
	<i>Luokė</i>	88,6 ^{aA} ± 0,5	11,0 ^{aC} ± 0,4	1,8 ^{ab} ± 0,2	6,6 ^{aA} ± 0,6	2,7 ^{aA} ± 0,3	55,5 ^{bb} ± 1,2

Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo mitybinės vertės rodiklio statistiškai reikšmingus skirtumus tarp veislių tais pačiais tyrimo metais. Skirtingos didžiosios raidės rodo mitybinės vertės rodiklio statistiškai reikšmingus skirtumus tarp metų tos pačios veislės grūduose. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in nutritive value between varieties within the same study year. Different uppercase letters indicate statistically significant differences in nutritive value between years within the same variety grains.

Mitybinės vertės rodiklių skirtumai tarp veislių pastebėti tik 2021 ir 2022 metais. *Luokė* veislės grūduose ŽB kiekis buvo didesnis 0,6-0,8 proc. SM ($P < 0,05$), ŽL kiekis didesnis 1,3 proc. SM ($P < 0,001$), tačiau Kr kiekis *Luokė* veislės grūduose buvo 5,1 proc. SM mažesnis nei *Laureate* veislės grūduose ($P < 0,001$).

Mineralinių medžiagų (Mg, Ca, P, Zn, Fe) kiekiais nustatyti skirtingų veislių miežių grūduose pateikti 4 paveiksle. Mg kiekis svyravo nuo 0,186 iki 0,215 proc. SM, Ca nuo 0,242 iki 0,370 proc. SM, P nuo 0,306 iki 0,479 proc. SM, Zn nuo 14,4 iki 52,0 mg kg⁻¹, Fe nuo 74,8 iki 130,7 mg kg⁻¹. Mineralinių medžiagų kiekiai keitėsi priklausomai nuo metų. 2020 metus lyginant su 2022 metais abiejų veislių grūduose nustatyti didesni Mg kiekiai ($P < 0,001$), Fe kiekiai taip pat abiejų veislių grūduose buvo reikšmingai didesni nei 2021 ir 2022 metais ($P < 0,01$). 2021 metais abiejų veislių grūduose pastebimas nuo 0,041 iki 0,128 proc. SM didesnis Ca ($P < 0,01$) ir nuo 17,0 iki 34,8 mg kg⁻¹ didesnis Zn kiekis. 2022 metais lyginant su kitais tyrimo metais abiejų veislių grūduose pastebėtas reikšmingai didesnis P kiekis. P kiekis 2022 metais buvo didesnis nuo 0,113 iki 0,158 proc. SM ($P < 0,001$).



Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo mitybinės vertės rodiklio statistiškai reikšmingus skirtumus tarp veislių tais pačiais tyrimo metais. Skirtingos didžiosios raidės rodo mitybinės vertės rodiklio statistiškai reikšmingus skirtumus tarp metų tos pačios veislės grūduose. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in nutritive value between varieties within the same study year. Different uppercase letters indicate statistically significant differences in nutritive value between years within the same variety grains.

4 pav. Mg, Ca, P (A), Zn ir Fe (B) kiekis skirtingų veislių miežių grūduose 2020–2022 metais

Fig. 4. Mg, Ca, P (A), Zn and Fe (B) contents in different varieties of barley grains in 2020–2022

Tarp veislių pastebėti tik nežymūs mineralinių medžiagų kiekių skirtumai. 2020 metais didesnis Fe kiekis 21,23 mg kg⁻¹ buvo nustatytas *Luokė* veislės grūduose ($P < 0,01$). 2021 metais skirtumų tarp veislių nepastebėta, o 2022 metais *Luokė* veislės grūduose P kiekis buvo 0,025 proc. SM didesnis nei *Laureate* veislės grūduose ($P < 0,01$).

Mitybinės vertės rodikliai (SM, ŽB, ŽR, ŽL, ŽP, Kr) nustatyti skirtingų veislių miežių grūduose, kai derlius buvo nuimamas optimaliu laiku (kietoji branda) ir vėluojant nuimti derlių 10 (± 2 d.) ir 20 (± 2 d.) dienų pateikti 6 lentelėje.

6 lentelė. Sausų medžiagų (SM), žalių baltymų (ŽB), žalių riebalų (ŽR), žalios ląstelienos (ŽL), žalių pelenų (ŽP) ir krakmolo (Kr) kiekio kitimas skirtingų veislių miežių grūduose 2020–2022 metais vėlinant derliaus nuėmimą

Table 6. Changes in dry matter (SM), crude protein (ŽB), crude fat (ŽR), crude fiber (ŽL), crude ash (ŽP) and starch (Kr) content in grains of different barley varieties at delayed harvest in 2020–2022

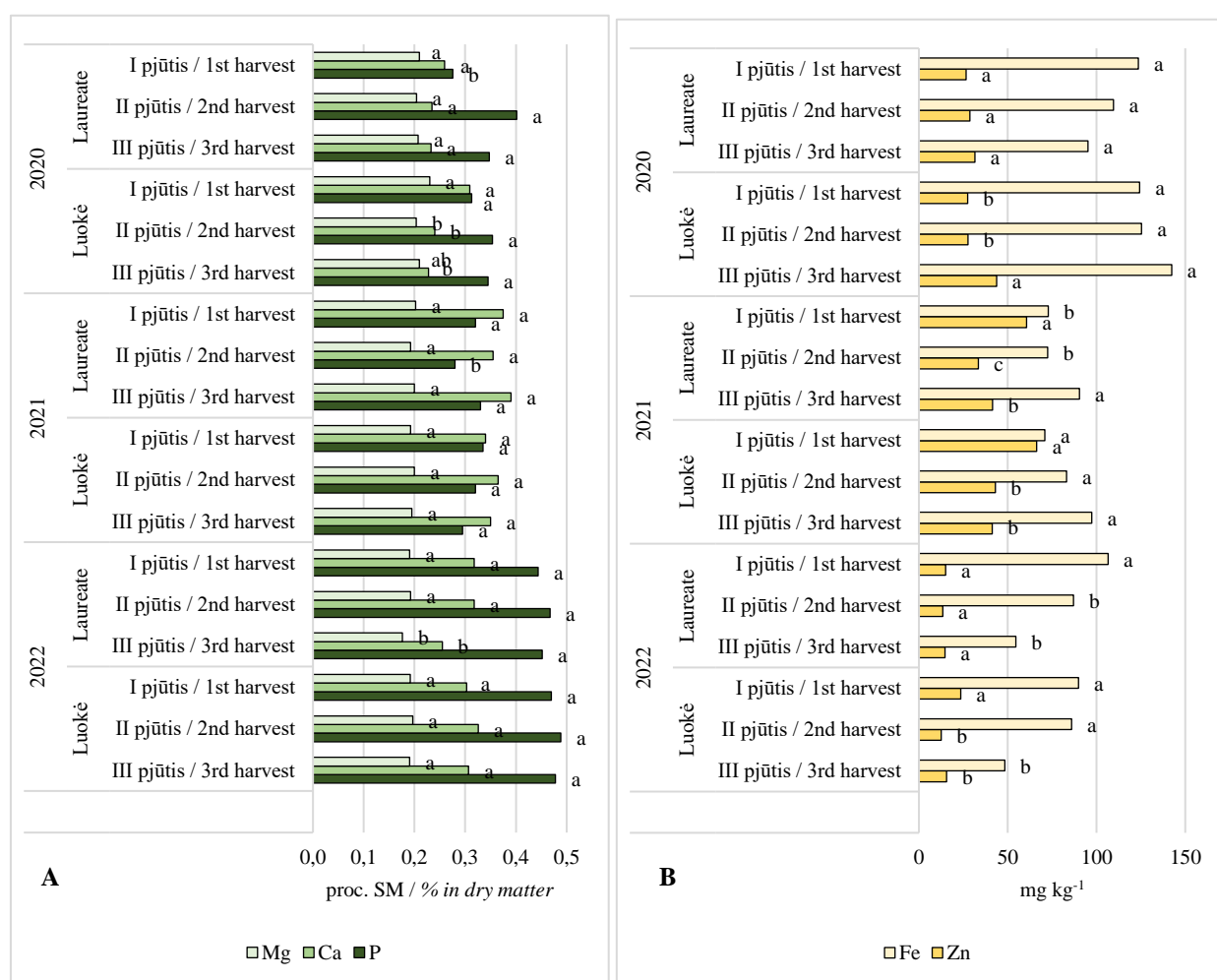
Metai / Year	Veislė / Variety	Derliaus nuėmimas / Harvest	SM, %	ŽB	ŽR	ŽL	ŽP	Kr
				% SM				
2020	Laureate	I	87,1 ^a ± 0,2	11,9 ^a ± 0,3	2,4 ^b ± 0,1	4,9 ^c ± 0,4	1,9 ^c ± 0,0	64,2 ^a ± 0,2
		II	86,6 ^b ± 0,2	11,7 ^a ± 0,6	2,5 ^a ± 0,1	6,3 ^b ± 0,5	2,3 ^b ± 0,1	64,1 ^a ± 0,3
		III	87,3 ^a ± 0,4	11,5 ^a ± 0,6	2,5 ^{ab} ± 0,1	7,3 ^a ± 0,6	2,7 ^a ± 0,1	58,9 ^b ± 0,5
	Luokė	I	88,4 ^a ± 0,3	11,8 ^a ± 0,6	2,6 ^a ± 0,1	6,3 ^{ab} ± 0,7	2,0 ^b ± 0,0	60,4 ^b ± 0,6
		II	87,2 ^b ± 0,2	11,6 ^a ± 0,7	2,5 ^a ± 0,1	6,8 ^a ± 0,4	2,4 ^a ± 0,1	58,7 ^c ± 0,6
		III	86,7 ^c ± 0,4	11,5 ^a ± 0,5	2,4 ^b ± 0,1	5,6 ^b ± 0,2	2,5 ^a ± 0,1	64,1 ^a ± 0,3
2021	Laureate	I	87,4 ^b ± 0,1	12,9 ^a ± 0,1	2,3 ^b ± 0,2	5,2 ^a ± 0,4	1,7 ^b ± 0,0	62,2 ^a ± 0,4
		II	88,8 ^a ± 0,3	13,2 ^a ± 0,3	3,2 ^a ± 0,2	5,5 ^a ± 0,4	1,9 ^a ± 0,1	60,4 ^b ± 0,6
		III	89,1 ^a ± 0,1	12,4 ^b ± 0,1	3,1 ^a ± 0,1	5,7 ^a ± 0,1	2,1 ^a ± 0,1	60,4 ^b ± 0,1
	Luokė	I	87,6 ^b ± 0,4	13,9 ^a ± 0,6	2,0 ^c ± 0,1	6,9 ^a ± 0,2	1,7 ^b ± 0,0	57,0 ^b ± 1,1
		II	88,7 ^a ± 0,2	13,7 ^a ± 0,4	3,0 ^b ± 0,3	6,9 ^a ± 0,6	2,0 ^a ± 0,1	55,6 ^b ± 0,9
		III	88,8 ^a ± 0,1	12,6 ^b ± 0,1	3,7 ^a ± 0,1	5,9 ^b ± 0,1	2,1 ^a ± 0,1	60,4 ^a ± 0,1
2022	Laureate	I	88,1 ^b ± 0,3	10,0 ^a ± 0,5	1,5 ^b ± 0,2	5,9 ^a ± 1,0	2,4 ^b ± 0,1	62,1 ^a ± 1,1
		II	88,6 ^a ± 0,2	10,3 ^a ± 0,3	1,8 ^{ab} ± 0,3	5,1 ^a ± 0,2	2,4 ^{ab} ± 0,2	59,9 ^b ± 1,4
		III	88,6 ^a ± 0,1	10,4 ^a ± 0,3	2,1 ^a ± 0,3	4,9 ^a ± 0,2	2,6 ^a ± 0,2	59,7 ^b ± 1,1
	Luokė	I	88,1 ^b ± 0,4	10,9 ^a ± 0,2	1,6 ^a ± 0,1	6,9 ^a ± 0,6	2,9 ^a ± 0,2	55,8 ^a ± 1,2
		II	88,9 ^a ± 0,4	11,0 ^a ± 0,2	1,8 ^a ± 0,3	6,6 ^a ± 0,8	2,6 ^b ± 0,1	55,5 ^a ± 1,7
		III	88,7 ^a ± 0,1	11,3 ^a ± 0,2	1,8 ^a ± 0,3	6,4 ^a ± 0,5	2,5 ^b ± 0,3	55,3 ^a ± 0,9

Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo mitybinės vertės rodiklio statistškai reikšmingus skirtumus tarp derliaus nuėmimo laikų tais pačiais tyrimo metais tos pačios veislės grūduose. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in nutritive value between harvests within the same year and variety grains.

Pastebima, jog 2020 metais *Laureate* veislės grūduose SM kiekis II derliaus nuėmimo metu buvo reikšmingai sumažėjęs ($P < 0,05$), tačiau III derliaus nuėmimo metu nesiskyrė nuo I derliaus nuėmimo. Taip pat vėlinant derliaus nuėmimą pastebimas reikšmingas ŽR (tik II derliaus nuėmimo metu $P < 0,05$) ŽL ($P < 0,01$) ir ŽP ($P < 0,001$) padidėjimas, o Kr sumažėjimas (tik III derliaus nuėmimo metu $P < 0,001$). *Luokė* veislės grūduose SM kiekis reikšmingai mažėjo II ($P < 0,001$) ir III derliaus nuėmimo metu ($P < 0,001$). Skirtingai nei *Laureate* veislės grūduose ŽR (tik III derliaus nuėmimo metu $P < 0,01$) ir ŽL (lyginant II ir III derliaus nuėmimus $P < 0,01$) kiekis reikšmingai sumažėjo, o Kr (tik III derliaus nuėmimo metu $P < 0,001$) ir ŽP kiekis ($P < 0,001$) padidėjo.

Analizuojant 2021 metų rezultatus pastebima, jog vėlinant derliaus nuėmimą abiejų veislių grūduose didėja SM ($P < 0,01$), ŽR ($P < 0,01$) ir ŽP ($P < 0,05$), tačiau reikšmingai mažėja ŽB kiekis ($P < 0,05$). Abiejų veislių grūduose vėl buvo pastebimos skirtingos ŽL ir Kr kiekių tendencijos vėlinant derliaus nuėmimą. ŽL kiekis *Laureate* veislės grūduose išliko nepakitęs, kai tuo tarpu *Luokė* veislės grūduose reikšmingai sumažėjo ($P < 0,05$), o Kr kiekis *Laureate* veislė reikšmingai sumažėjo, kai tuo tarpu *Luokė* veislės grūduose reikšmingai padidėjo ($P < 0,01$).

Rezultatai gauti 2022 metais parodė, jog abiejų veislių grūduose pastebimas SM ($P < 0,05$), kiekio padidėjimas, o ŽR ($P < 0,01$) ir ŽP ($P < 0,05$) kiekis reikšmingai didėjo tik *Laureate* veislės grūduose, kai tuo tarpu *Luokė* veislės grūduose ŽR kiekis reikšmingai nekito, o ŽP kiekis sumažėjo ($P < 0,05$). ŽB ir ŽL abiejų veislių grūduose nepakito, o Kr kiekis sumažėjo tik *Laureate* veislės grūduose ($P < 0,05$).



Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo mitybinės vertės rodiklio statistiškai reikšmingus skirtumus tarp derliaus nuėmimo laikų tais pačiais tyrimo metais tos pačios veislės grūduose. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in nutritive value between harvests within the same year and variety grains.

5 pav. Mg, Ca, P (A), Zn ir Fe (B) kiekio kitimas skirtingų veislių miežių grūduose 2020–2022 metais vėlinant derliaus nuėmimą

Fig. 5. Changes in Mg, Ca, P (A), Zn and Fe (B) content in grains of different barley varieties at delayed harvest in 2020–2022

Mineralinių medžiagų (Mg, Ca, P, Zn, Fe) kiekiai nustatyti skirtingų veislių miežių grūduose vėlinant derliaus nuėmimą pateikti 5 paveiksle. *Luokė* veislės grūduose 2020 metais Mg kiekio sumažėjimas 0,026 proc. SM pastebėtas II derliaus nuėmimo metu ($P < 0,05$), o Ca kiekio sumažėjimas 0,069-0,081 proc. SM pastebėtas II ir III derliaus nuėmimo metu ($P < 0,05$). Vis dėlto Zn kiekis III derliaus nuėmimo metu padidėjo 16,17 mg kg⁻¹ ($P < 0,01$). Vėlesniais tyrimo metais vėlinant derliaus nuėmimą *Luokė* veislės grūduose II ir III derliaus nuėmimo metu pastebėtas Zn kiekio sumažėjimas. Pastebėta, jog Zn kiekis 2021 metais sumažėjo 23–25 mg kg⁻¹ ($P < 0,05$), o 2022 metais sumažėjo 8–11 mg kg⁻¹ ($P < 0,05$). *Laureate* veislės grūduose 2020 metais P kiekis II ir III derliaus nuėmimo metu 0,072-0,126 proc. SM reikšmingai padidėjo, 2021 metais nustatytas Zn kiekio sumažėjimas 19-27 mg kg⁻¹ ($P < 0,001$), o 2022 metais Mg kiekio sumažėjimas 0,014 proc., Ca kiekio sumažėjimas 0,063 proc. SM ($P < 0,001$) ir Fe kiekio sumažėjimas 19–52 mg kg⁻¹ III derliaus nuėmimo metu ($P < 0,001$).

Įvertinus bendrą abiejų veiksnių (veislės ir derliaus nuėmimo laiko) poveikį mitybinės vertės rodiklių pokyčiams, pastebėta, kad jų bendras poveikis įvairiais metais skyrėsi, todėl nebuvo aiškių ir nuoseklių tendencijų.

Apibendrinimas ir diskusija. Tyrimų metais kuomet miežių vegetacijos laikotarpiu vyravo sausesni ir šiltesni orai nustatytas mažiausias ŽP kiekis ir didžiausias ŽB kiekis, o vyraujant lietingesniems orams nustatytas mažiausias ŽB ir ŽR kiekis, tačiau didžiausias Kr kiekis. Kanados ir Amerikos mokslininkai taip pat pastebi, kad sausrų metu esant aukštoms temperatūroms, baltymų ir mineralinių medžiagų kiekis miežių ir kitų rūšių grūduose gali reikšmingai padidėti, o krakmolo kiekis sumažėti (Izydorczyk et al. 2021; Ben Mariem et al. 2021). Luokė veislės grūdai pasižymėjo didesniais ŽB ir ŽL kiekiais bei mažesniais Kr kiekiais lyginant su Laureate. Šie skirtumai gali būti paaiškinami tuo, jog įprastai salyklinės veislės grūdai pasižymi didesniu krakmolo ir mažesniu baltymų kiekiu (Deme et al. 2019). Tyrimui pasirinkta Laureate veislė priskiriama salykliniams grūdams. Mineralinių medžiagų kiekis grūduose skyrėsi tarp metų: vyraujant orams, artimiems daugiamečiam vidurkiui buvo didesni Mg ir Fe kiekiai, vyraujant sausesniems orams Ca ir Zn kiekiai, o lietingesniais metais P kiekis. Tarp veislių buvo pastebėti tik labai nedideli pavieniai mineralinių medžiagų kiekių skirtumai. Vėlinant derliaus nuėmimą buvo pastebėtos kelios tendencijos: SM, ŽR ir ŽP kiekio didėjimas, o ŽB kiekis daugeliu atveju nekito arba reikšmingai mažėjo. Skirtingų veislių reakciją į derliaus vėlinimą ŽL ir Kr atveju išsiskyrė: ŽL kiekis Laureate veislės grūduose didėjo arba nekito, o Luokė veislės grūduose mažėjo arba nekito, Kr kiekis Laureate veislės grūduose mažėjo, o Luokė veislės grūduose didėjo arba nekito. Mg, Ca ir P kiekiai abiejų veislių grūduose daugeliu atveju vėlinant derliaus nuėmimą išliko nepakitę, tačiau Zn ir Fe kiekiuose vėlinant derliaus nuėmimą pastebima mažėjimo tendencija, ypač lietingesniais tyrimo metais. Lietuvoje vertinant kviečių grūdus, vėlinant derliaus nuėmimą dažniausiai pastebimi didesni SM, ŽR ir ŽP kiekiai ir mažesni mineralinių medžiagų, tokių kaip Ca ir P kiekiai (Kochiieru 2020).

3.1.2. Kukurūzų grūdai

Mitybinės vertės rodikliai nustatyti skirtingų hibridų kukurūzų grūduose pateikti 7 lentelėje. *Duxxbury* hibrido grūduose SM kiekis 2020 metais buvo vidutiniškai 1,3 proc. reikšmingai didesnis nei 2021 ($P < 0,05$) ir 2022 ($P < 0,01$) metais, kai tuo tarpu *Lapriora* hibrido grūduose SM kiekis buvo vidutiniškai 1,6 proc. didesnis ir 2020 ($P < 0,001$), ir 2021 metais ($P < 0,01$). Didžiausias ŽB kiekis abiejų hibridų grūduose buvo nustatytas 2021 metais, o mažiausias 2022 metais. ŽB kiekis 2021 metais buvo beveik 2 kartus didesnis nei 2022 metais ($P < 0,01$). Reikšmingai mažesnis (apie 1,3 proc. SM) ŽR kiekis buvo nustatytas tik 2021 metais *Duxxbury* hibrido grūduose. ŽL ir ŽP kiekis reikšmingai nekito nei tarp metų, nei tarp veislių. Abiejų hibridų grūduose 2021 metais pastebėtas reikšmingai mažesnis VTA kiekis – apie 0,7 proc. SM ($P < 0,01$ *Duxxbury* hibrido grūduose ir apie 0,4 proc. SM ($P < 0,05$) *Lapriora* hibrido grūduose. Didžiausias NDF kiekis nustatytas *Lapriora* hibrido grūduose 2021 metais. NDF kiekis buvo 1 proc. SM didesnis nei 2020 metais ($P < 0,01$) ir net 2,1 proc. SM didesnis nei 2022 metais ($P < 0,001$). *Duxxbury* hibrido grūduose NDF kiekis buvo reikšmingai didesnis (vidutiniškai 1 proc. SM) tiek 2020 ($P < 0,01$), tiek 2021 metais ($P < 0,001$). ADF ir Kr kiekiai *Duxxbury* hibrido grūduose 2021 metais buvo atitinkamai maždaug 0,5 ($P < 0,001$) ir 2,5 ($P < 0,01$) proc. ADF kiekis *Lapriora* hibrido grūduose taip pat 0,5 proc. SM buvo didesnis 2021 metais ($P < 0,01$), tačiau didesnis Kr kiekis (apie 1,4 proc. SM) pastebėtas buvo 2022 metais ($P < 0,01$).

7 lentelė. Sausų medžiagų (SM), žalių baltymų (ŽB), žalių riebalų (ŽR), žalios ląstelienos (ŽL), žalių pelenų (ŽP), vandenyje tirpių angliavandenių (VTA, neutraliame (NDF) ir rūgštiniame (ADF) tirpale tirpios ląstelienos ir krakmolo (Kr) kiekis skirtingų hibridų kukurūzų grūduose 2020–2022 metais.

Table 7. Dry matter (SM), crude protein (ŽB), crude fat (ŽR), crude fiber (ŽL), crude ash (ŽP), water soluble carbohydrates (VTA), neutral (NDF) and acid (ADF) detergent fiber and starch (Kr) contents in different hybrids of maize grains in 2020–2022.

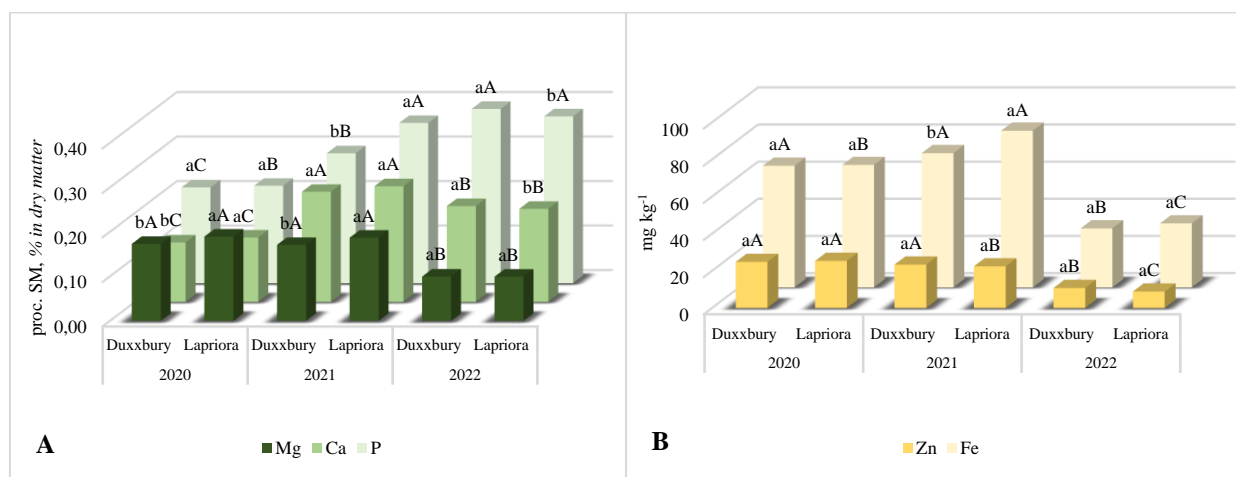
Metai/ Year	Hibridas / Hybrid	SM, %	% SM							
			ŽB	ŽR	ŽL	ŽP	VTA	NDF	ADF	Kr
2020	<i>Duxxbury</i>	88,0 ^{aA} ±0,9	7,6 ^{bB} ±0,3	4,2 ^{bA} ±0,5	3,4 ^{aA} ±0,5	1,4 ^{aA} ±0,1	3,2 ^{aB} ±0,2	8,9 ^{aA} ±0,6	2,7 ^{aB} ±0,2	74,1 ^{aC} ±0,7
	<i>Lapriora</i>	88,0 ^{aA} ±0,7	8,2 ^{aB} ±0,5	4,9 ^{aA} ±0,5	3,0 ^{aA} ±0,3	1,4 ^{aA} ±0,1	3,2 ^{aA} ±0,6	8,5 ^{aB} ±0,5	2,6 ^{aB} ±0,4	73,4 ^{aB} ±0,9
2021	<i>Duxxbury</i>	86,7 ^{aB} ±1,2	10,0 ^{bA} ±0,5	3,0 ^{bB} ±0,2	3,2 ^{aA} ±0,6	1,3 ^{aA} ±0,2	2,6 ^{aC} ±0,3	9,0 ^{aA} ±0,6	3,1 ^{aA} ±0,2	77,7 ^{aA} ±1,5
	<i>Lapriora</i>	87,5 ^{aA} ±1,0	11,4 ^{aA} ±0,4	4,8 ^{aA} ±0,2	3,3 ^{aA} ±0,3	1,4 ^{aA} ±0,1	2,8 ^{aB} ±0,2	9,5 ^{aA} ±0,9	3,1 ^{aA} ±0,4	73,9 ^{bB} ±1,0
2022	<i>Duxxbury</i>	86,7 ^{aB} ±1,2	6,1 ^{aC} ±0,3	4,3 ^{bA} ±0,1	3,0 ^{aA} ±0,5	1,5 ^{aA} ±0,2	3,4 ^{aA} ±0,5	8,0 ^{aB} ±0,5	2,6 ^{aB} ±0,3	76,3 ^{aB} ±1,1
	<i>Lapriora</i>	86,1 ^{aB} ±1,5	5,4 ^{bC} ±0,3	5,2 ^{aA} ±0,7	3,0 ^{aA} ±0,5	1,4 ^{aA} ±0,2	3,2 ^{aA} ±0,3	7,4 ^{aC} ±0,7	2,6 ^{aB} ±0,3	75,0 ^{bA} ±0,5

Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo mitybinės vertės rodiklio statistiškai reikšmingus skirtumus tarp hibridų tais pačiais tyrimo metais. Skirtingos didžiosios raidės rodo mitybinės vertės rodiklio statistiškai reikšmingus skirtumus tarp metų to pačio hibrido grūduose. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant

nutritive value differences between hybrids within the same study year. Different uppercase letters indicate statistically significant nutritive value differences between years within the same hybrid grains.

Vertinant kokybinės sudėties skirtumus tarp hibridų pastebėta, jog *Lapriora* hibrido grūdai 2020 ir 2021 metais turėjo vidutiniškai 1 proc. SM didesnę ŽB kiekį ($P < 0,01$), tačiau 2022 metais 0,7 proc. SM didesnis ŽB kiekis jau buvo nustatytas *Duxxbury* hibrido grūduose ($P < 0,001$). Vertinant kitų rodiklių skirtumus pastebima, kad per visą tyrimo laikotarpį *Duxxbury* hibrido grūduose buvo nustatytas vidutiniškai 1,1 proc. SM didesnis ŽR kiekis ($P < 0,01$), o Kr kiekis 2021 ir 2022 metais buvo vidutiniškai 2,6 proc. SM mažesnis nei *Lapriora* hibrido grūduose.

Mineralinių medžiagų (Mg, Ca, P, Zn, Fe) kiekiais nustatyti skirtingų hibridų kukurūzų grūduose pateikti 6 paveiksle. Mg kiekis svyravo nuo 0,099 iki 0,189 proc. SM, Ca nuo 0,134 iki 0,260 proc. SM, P nuo 0,215 iki 0,392 proc. SM, Zn nuo 8,9 iki 25,4 mg kg⁻¹, Fe nuo 31,8 iki 84,4 mg kg⁻¹.



Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo mitybinės vertės rodiklio statistiškai reikšmingus skirtumus tarp hibridų tais pačiais tyrimo metais. Skirtingos didžiosios raidės rodo mitybinės vertės rodiklio statistiškai reikšmingus skirtumus tarp metų to pačio hibrido grūduose. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant nutritive value differences between hybrids within the same study year. Different uppercase letters indicate statistically significant nutritive value differences between years within the same hybrid grains.

6 pav. Mg, Ca, P (A), Zn ir Fe (B) kiekis skirtingų hibridų kukurūzų grūduose 2020–2022 metais

Fig. 6. Mg, Ca, P (A), Zn and Fe (B) contents in different hybrids of maize grains in 2020–2022

Mažiausi P ir Ca kiekiai abiejų hibridų grūduose nustatyti 2020 metais. P kiekis *Duxxbury* hibrido grūduose lyginant su 2021 metais buvo mažesnis 0,077 proc. SM ($P < 0,001$), o lyginant su 2022 metais 0,176 proc. SM ($P < 0,001$). P kiekis *Lapriora* hibrido grūduose 2020 metais buvo vidutiniškai 0,149 proc. SM mažesnis nei 2021 ir 2022 metais ($P < 0,001$). Ca kiekis 2020 metais *Duxxbury* hibrido grūduose buvo 0,073 proc. SM, o *Lapriora* hibrido grūduose 0,083 proc. SM mažesnis nei 2021 ir 2022 metais ($P < 0,001$).

Vieni didžiausių mineralinių medžiagų kiekiai fiksuojami 2021 metais. Reikšmingai mažesnis (apie 0,100 proc. SM) nustatytas tik P kiekis *Duxxbury* hibrido grūduose lyginant su 2022 metais ($P < 0,001$) ir mažesnis (apie 14 mg kg⁻¹) Zn kiekis *Lapriora* hibrido grūduose lyginant su 2020 metais ($P < 0,05$).

Mažiausi Mg, Zn ir Fe kiekiai abiejų hibridų grūduose nustatyti 2022 metais. Lyginant su 2020 ir 2021 metais Mg kiekis *Duxxbury* hibrido grūduose buvo mažesnis 0,072 proc. SM ($P < 0,001$), *Lapriora* hibrido grūduose 0,089 proc. SM ($P < 0,001$), Zn kiekis *Duxxbury* hibrido grūduose buvo mažesnis 13 mg kg⁻¹ ($P < 0,001$), *Lapriora* hibrido grūduose 15 mg kg⁻¹ ($P < 0,001$), Fe kiekis *Duxxbury* hibrido grūduose buvo mažesnis 37 mg kg⁻¹ ($P < 0,001$), *Lapriora* hibrido grūduose 41 mg kg⁻¹ ($P < 0,001$).

Įvertinus skirtumus tarp hibridų tais pačiais metais pastebėta, jog Mg kiekis 2020 ir 2021 metais buvo didesnis *Lapriora* hibrido grūduose ($P < 0,001$). Ca kiekis didesnis nustatytas 2020 metais *Lapriora* hibrido grūduose ($P < 0,01$), tačiau 2022 didesnis kiekis jau pastebėtas *Duxxbury* hibrido grūduose ($P < 0,05$). P kiekis taip pat neturėjo pastovumo – 2021 metais didesnis kiekis buvo *Lapriora* hibrido grūduose ($P < 0,001$), o 2022 metais *Duxxbury* hibrido grūduose ($P < 0,05$). Reikšmingai didesnę Fe kiekį turėjo *Lapriora* hibrido grūdai 2021 metais ($P < 0,01$), o vertinant Zn kiekį skirtumų tarp veislių pastebėta nebuvo.

Mitybinės vertės rodikliai nustatyti skirtingų hibridų kukurūzų grūduose vėlinant derliaus nuėmimą pateikti 8 lentelėje. Pastebima, jog visą tyrimo laikotarpį abiejų hibridų grūduose SM kiekis didėjo vėlinant derliaus nuėmimą. *Duxxbury* hibrido grūduose SM kiekis didėjo 1,8–2,4 proc. ($P < 0,01$), *Lapriora* hibrido grūduose 1,3–3,1 proc. ($P < 0,001$).

8 lentelė. Sausų medžiagų (SM), žalių baltymų (ŽB), žalių riebalų (ŽR), žalios ląstelienos (ŽL), žalių pelenų (ŽP), vandenyje tirpių angliavandenių (VTA, neutraliame (NDF) ir rūgštiniame (ADF) tirpale tirpios ląstelienos ir krakmolo (Kr) kiekio kitimas skirtingų hibridų kukurūzų grūduose 2020–2022 metais vėlinant derliaus nuėmimą

Table 8. Changes in dry matter (SM), crude protein (ŽB), crude fat (ŽR), crude fiber (ŽL), crude ash (ŽP), water soluble carbohydrates (VTA), neutral (NDF) and acid (ADF) detergent fiber and starch (Kr) content in different hybrids of maize grains at delayed harvest in 2020–2022

Metai / Year	Hibridas / Hybrid	Derliaus nuėmimas / Harvest	SM, %	ŽB	ŽR	ŽL	ŽP	VTA	NDF	ADF	Kr
				% SM							
2020	<i>Duxxbury</i>	I	87,2 ^b ±0,7	7,5 ^a ±0,2	3,7 ^b ±0,2	3,0 ^b ±0,3	1,3 ^b ±0,1	3,1 ^{ab} ±0,2	8,4 ^b ±0,3	2,5 ^b ±0,1	74,4 ^a ±0,5
		II	87,6 ^b ±0,2	7,9 ^a ±0,4	4,6 ^a ±0,6	3,4 ^{ab} ±0,2	1,5 ^a ±0,1	3,4 ^a ±0,3	9,5 ^a ±0,7	2,9 ^a ±0,2	73,4 ^b ±0,8
		III	89,0 ^a ±0,3	7,6 ^a ±0,3	4,4 ^a ±0,1	3,7 ^a ±0,6	1,4 ^b ±0,1	3,0 ^b ±0,2	8,8 ^{ab} ±0,3	2,7 ^{ab} ±0,3	74,6 ^a ±0,2
	<i>Lapriora</i>	I	87,6 ^b ±0,3	8,6 ^a ±0,3	4,4 ^f ±0,4	2,9 ^a ±0,3	1,3 ^a ±0,1	3,9 ^a ±0,5	8,1 ^b ±0,3	2,3 ^b ±0,2	72,6 ^b ±0,1
		II	87,6 ^b ±0,4	7,9 ^a ±0,6	4,9 ^b ±0,2	3,0 ^a ±0,3	1,4 ^a ±0,2	2,7 ^b ±0,1	8,6 ^{ab} ±0,2	2,5 ^b ±0,2	74,5 ^a ±0,3
		III	88,9 ^a ±0,3	8,1 ^a ±0,4	5,5 ^a ±0,1	3,2 ^a ±0,4	1,3 ^a ±0,1	3,1 ^b ±0,2	8,8 ^a ±0,6	3,1 ^a ±0,2	73,2 ^b ±0,9

Metai / Year	Hibridas / Hybrid	Derliaus nuėmimas / Harvest	SM, %	ŽB	ŽR	ŽL	ŽP	VTA	NDF	ADF	Kr
				% SM							
2021	Duxxbury	I	85,2 ^b ±0,2	10,1 ^a ±0,6	3,0 ^a ±0,2	3,7 ^a ±0,5	1,5 ^b ±0,1	2,9 ^a ±0,2	8,6 ^b ±0,6	3,0 ^b ±0,1	77,4 ^a ±1,3
		II	87,3 ^a ±0,2	9,9 ^a ±0,7	3,0 ^a ±0,2	2,9 ^b ±0,5	1,2 ^a ±0,1	2,6 ^b ±0,1	9,6 ^a ±0,3	3,4 ^a ±0,2	77,4 ^a ±1,3
		III	87,6 ^a ±0,7	10,0 ^a ±0,4	3,0 ^a ±0,2	3,0 ^b ±0,4	1,2 ^a ±0,1	2,4 ^b ±0,1	8,9 ^{ab} ±0,6	3,1 ^b ±0,2	78,3 ^a ±2,1
	Lapriora	I	86,2 ^c ±0,6	11,1 ^b ±0,2	4,6 ^b ±0,1	3,1 ^a ±0,1	1,3 ^b ±0,1	2,7 ^b ±0,2	8,9 ^b ±0,5	2,8 ^b ±0,1	73,5 ^a ±0,9
		II	87,8 ^b ±0,2	11,4 ^{ab} ±0,2	4,9 ^a ±0,1	3,1 ^a ±0,3	1,3 ^b ±0,1	2,8 ^{ab} ±0,1	9,0 ^b ±0,4	2,9 ^b ±0,1	74,7 ^a ±1,3
		III	88,4 ^a ±0,2	11,7 ^a ±0,5	4,8 ^a ±0,1	3,5 ^a ±0,4	1,5 ^a ±0,1	2,9 ^a ±0,1	10,5 ^a ±0,5	3,6 ^a ±0,4	73,6 ^a ±0,2
2022	Duxxbury	I	86,1 ^b ±1,1	6,1 ^a ±0,5	4,2 ^a ±0,1	2,9 ^b ±0,1	1,7 ^a ±0,1	4,1 ^a ±0,1	7,7 ^a ±0,4	2,5 ^b ±0,1	76,0 ^a ±1,4
		II	86,0 ^b ±0,8	6,0 ^a ±0,2	4,3 ^a ±0,2	2,6 ^b ±0,2	1,4 ^a ±0,2	3,2 ^b ±0,2	7,9 ^a ±0,5	2,5 ^b ±0,1	76,5 ^a ±1,1
		III	88,0 ^a ±0,2	6,3 ^a ±0,4	4,3 ^a ±0,1	3,5 ^a ±0,4	1,4 ^a ±0,1	3,0 ^a ±0,1	8,4 ^a ±0,3	2,9 ^a ±0,3	76,5 ^a ±1,1
	Lapriora	I	84,5 ^c ±1,0	5,3 ^a ±0,2	4,6 ^a ±1,0	2,9 ^a ±0,2	1,4 ^{ab} ±0,1	3,6 ^a ±0,2	7,1 ^a ±0,6	2,5 ^a ±0,3	74,7 ^a ±0,5
		II	86,3 ^b ±0,2	5,4 ^a ±0,3	5,3 ^a ±0,2	3,3 ^a ±0,6	1,6 ^a ±0,1	3,1 ^b ±0,1	7,6 ^a ±0,8	2,6 ^a ±0,3	75,2 ^a ±0,6
		III	87,6 ^a ±0,2	5,6 ^a ±0,3	5,6 ^a ±0,1	2,7 ^a ±0,4	1,3 ^b ±0,2	3,1 ^b ±0,1	7,5 ^a ±1,2	2,8 ^a ±0,3	75,2 ^a ±0,6

Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo mitybinės vertės rodiklio statistiškai reikšmingus skirtumus tarp derliaus nuėmimo laikų tais pačiais tyrimo metais to pačio hibrido grūduose. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in nutritive value between harvests within the same year and hybrid grains.

ŽB kiekis vėlinant derliaus nuėmimą daugeliu atveju išliko stabilus, tik šio toks padidėjimas (apie 0,2 proc. SM) pastebimas 2021 metais *Lapriora* hibrido grūduose ($P < 0,05$). Ryškiausias ŽR kiekio pokytis pastebimas 2020 metais.

Duxxbury hibrido grūduose ŽR kiekis reikšmingai padidėjo 0,9 proc. SM ($P < 0,05$) II derliaus nuėmimo metu, *Lapriora* hibrido grūduose II derliaus nuėmimo metu padidėjo 0,5 proc. SM ($P < 0,05$), o III 1,1 proc. SM ($P < 0,001$) lyginant su I derliaus nuėmimu. ŽR kiekio nedidelis padidėjimas (apie 0,3 proc. SM) *Lapriora* hibrido grūduose pastebimas ir 2021 metais lyginant I derliaus nuėmimą su vėlesniais ($P < 0,05$).

ŽL kiekis *Lapriora* hibrido grūduose išliko stabilus vėlinant derliaus nuėmimą, tačiau *Duxxbury* hibrido grūduose pastebėti tam tikri pokyčiai. Kiekis 2020 ir 2022 metais turėjo tendenciją didėti – nustatytas padidėjimas lyginant I ir III derliaus nuėmimus 2020 metais ($P < 0,05$), bei lyginant pirmus du derliaus nuėmimus su III 2022 metais ($P < 0,01$).

Vertinant ŽP kiekį tam tikro dėsnigumo pastebėta nebuvo: 2020 metais *Duxxbury* hibrido grūduose II derliaus nuėmimo metu nustatytas nedidelis (0,2 proc. SM) padidėjimas, tačiau III derliaus nuėmimo metu ŽP kiekis vėl sumažėjo ($P < 0,05$), 2021 metais *Duxxbury* hibrido grūduose pastebimas 0,3 proc. SM sumažėjimas lyginant su I derliaus nuėmimu ($P < 0,001$), tačiau *Lapriora* hibrido grūduose atvirkščiai pastebimas 0,4 proc. SM padidėjimas lyginant su I ir II derliaus nuėmimu ($P < 0,001$), 2022 metais *Lapriora* hibrido grūduose pastebimas 0,3 proc. SM sumažėjimas lyginant II ir III derliaus nuėmimus.

VTA vėlinant derliaus turėjo tendenciją mažėti. *Duxxbury* hibrido grūduose 2020 metais nedidelis sumažėjimas pastebimas tik III derliaus nuėmimo metu ($P < 0,05$), 2021 metais II ($P < 0,05$) ir III ($P < 0,001$) derliaus nuėmimo metu, 2022 metais VTA kiekis reikšmingai

mažėjo su kiekvienu derliaus nuėmimu ($P < 0,01$). *Lapriora* hibrido grūduose 2020 ir 2022 metais reikšmingas sumažėjimas pastebimas II ir III derliaus nuėmimo metu ($P < 0,01$), tačiau 2021 metais pastebimas nedidelis padidėjimas III derliaus nuėmimo metu ($P < 0,05$).

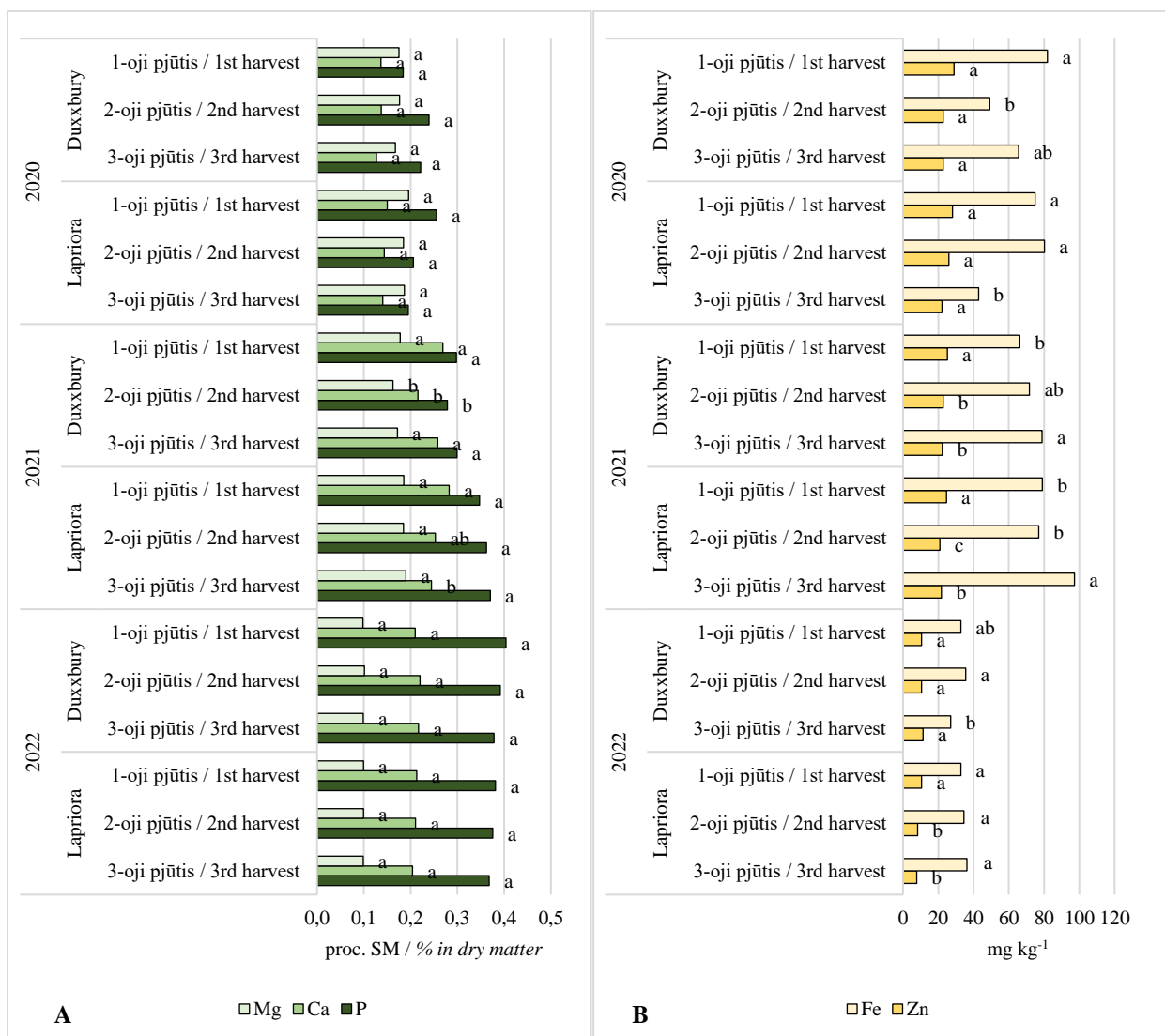
NDF ir ADF kiekiai 2020 metais *Duxxbury* hibrido grūduose atitinkamai padidėjo 1,1 ir 0,4 proc. SM II derliaus nuėmimo metu ($P < 0,05$), tačiau III derliaus nuėmimas reikšmingai nesiskyrė nuo pirmų dviejų derliaus nuėmimų. *Lapriora* hibrido grūduose NDF ir ADF kiekiai III derliaus nuėmimą lyginant su pirmuoju padidėjo atitinkamai 0,7 ($P < 0,05$) ir 0,8 ($P < 0,001$) proc. SM. Sekančiais tyrimo metais *Duxxbury* hibrido grūduose pastebima ta pati tendencija. II derliaus nuėmimo metu NDF ir ADF atitinkamai padidėjo 1 ($P < 0,05$) ir 0,4 ($P < 0,01$) proc. SM, tačiau III derliaus nuėmimo metu kiekiai nesiskyrė nuo I derliaus nuėmimo, o *Lapriora* hibrido grūduose NDF ir ADF kiekiai atitinkamai didėjo 1,6 ir 0,8 proc. SM ($P < 0,01$). 2022 tyrimo metais vėlinant derliaus nuėmimą NDF abiejų hibridų grūduose reikšmingai nekito, o ADF padidėjo 0,4 proc. SM tik *Duxxbury* hibrido grūduose III derliaus nuėmimo metu ($P < 0,05$).

Kr kiekio pokyčiai buvo pastebimi abiejų hibridų grūduose tik 2020 metais II derliaus nuėmimo metu. *Duxxbury* hibrido grūduose Kr kiekis sumažėjo 1 proc. SM ($P < 0,05$), *Lapriora* hibrido grūduose padidėjo 1,9 proc. SM ($P < 0,01$), tačiau III derliaus nuėmimo metu Kr kiekis abiejų hibridų grūduose buvo vėl toks pat kaip ir I derliaus nuėmimo metu.

Mineralinių medžiagų pokyčius vėlinant derliaus nuėmimą matomi 7 paveiksle.

Vėlinant derliaus nuėmimą 2020 metais pastebimi tik Fe kiekio pokyčiai abiejų hibridų grūduose. *Duxxbury* hibrido grūduose Fe kiekis II derliaus nuėmimo metu sumažėjo 60 proc. ($P < 0,05$), tačiau III derliaus nuėmimo metu padidėjo ir reikšmingai nesiskyrė nuo pirmųjų dviejų derliaus nuėmimo laikų. *Lapriora* hibrido grūduose Fe kiekis sumažėjo 55 proc. tik III derliaus nuėmimo metu ($P < 0,05$).

Vėluojant nuimti derlių 2021 metais *Duxxbury* hibrido grūduose kito visų mineralinių medžiagų kiekiai. P, Ca, Mg, ir Zn kiekis atitinkamai sumažėjo 0,019 ($P < 0,05$), 0,053 ($P < 0,01$), 0,015 ($P < 0,001$) proc. SM ir 2,4 mg kg⁻¹ ($P < 0,01$) II derliaus nuėmimo metu, tačiau P, Ca ir Mg vėl padidėjo III derliaus nuėmimo metu, o Zn kiekis išliko toks pat. Fe kiekis atvirkščiai turėjo tendenciją didėti ir vėliausios derliaus nuėmimo metu Fe kiekis buvo beveik 13 mg kg⁻¹ didesnis ($P < 0,05$). *Lapriora* hibrido grūduose 2021 tyrimo metais Ca kiekis sumažėjo 0,038 proc. SM III derliaus nuėmimo metu ($P < 0,05$), Zn kiekis sumažėjo 3,6 mg kg⁻¹ jau II derliaus nuėmimo metu ($P < 0,001$), III derliaus nuėmimo metu kiekis šiek tiek padidėjo (apie 0,9 mg kg⁻¹), tačiau vis tiek buvo reikšmingai mažesnis nei I derliaus nuėmimo metu ($P < 0,05$). Fe kiekis, kaip ir *Duxxbury* hibrido grūduose turėjo tendenciją didėti ir III derliaus nuėmimo metu buvo daugiau kaip 19 mg kg⁻¹ didesnis ($P < 0,01$).



Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo mitybinės vertės rodiklio statistiškai reikšmingus skirtumus tarp derliaus nuėmimo laikų tais pačiais tyrimo metais to pačio hibrido grūduose. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in nutritive value between harvests within the same year and hybrid grains.

7 pav. Mg, Ca, P (A), Zn ir Fe (B) kiekio kitimas skirtingų hibridų kukurūzų grūduose 2020–2022 metais vėlinant derliaus nuėmimą

Fig. 7. Changes in Mg, Ca, P (A), Zn and Fe (B) content in grains of different maize hybrids from 2020 to 2022 at different harvest times

Derliaus nuėmimo vėlinimas 2022 metais *Duxxbury* hibrido grūduose lėmė Fe kiekio sumažėjimą 8,4 mg kg⁻¹ III derliaus nuėmimo metu lyginant su II derliaus nuėmimu (P < 0,05), tačiau I derliaus nuėmimas reikšmingai nesiskyrė nuo vėlesnių. Tais pačiais tyrimo metais *Lapriora* hibrido grūduose pastebimas tik Zn kiekio sumažėjimas apie 2,5 mg kg⁻¹ II ir III derliaus nuėmimo metu (P < 0,01).

Įvertinus bendrą abiejų veiksnių (hibrido ir derliaus nuėmimo laiko) poveikį mitybinės vertės rodiklių pokyčiams, pastebėta, kad jų bendras poveikis įvairiais metais skyrėsi. 2021 metai išsiskyrė,

nes hibrido ir derliaus nuėmimo laiko sąveika, turėjo įtakos daugeliui mitybinės vertės rodiklių. Atlikus dviejų faktorių dispersinę analizę (ANOVA) 2021 metais paaiškėjo, kad tarp hibrido ir derliaus nuėmimo laiko pasirinkimo buvo statistiškai reikšminga sąveika vertinant $\check{Z}L$ ($P < 0,05$), $\check{Z}P$ ($P < 0,001$), VTA ($P < 0,001$), NDF ($P < 0,001$), ADF ($P < 0,001$) ir Ca ($P < 0,05$) kiekius.

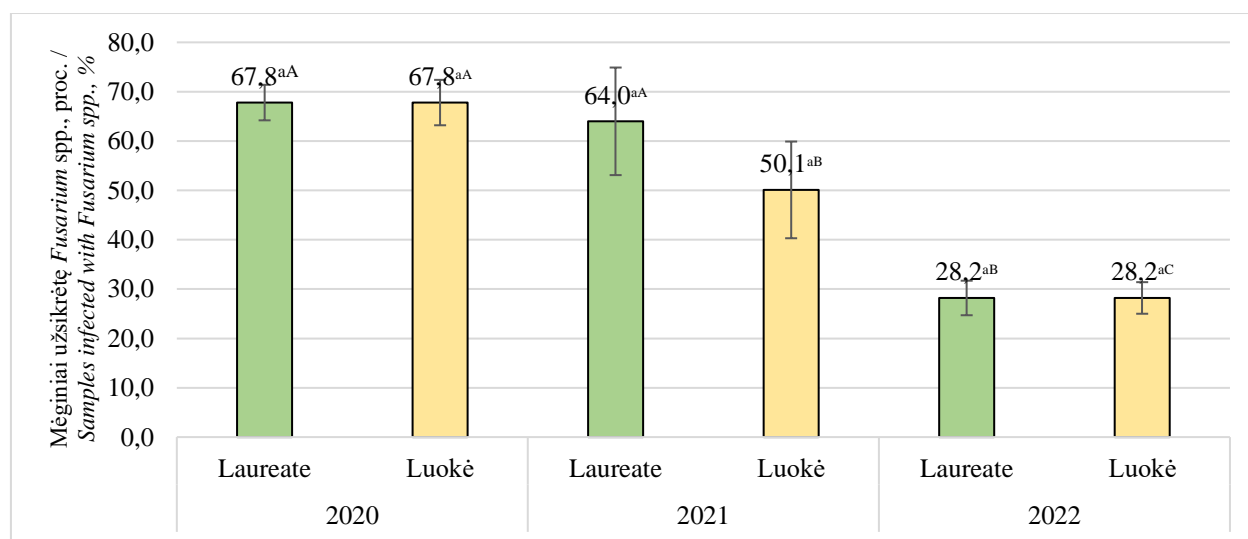
Apibendrinimas ir diskusija. Palyginus mitybinės vertės rodiklių skirtumus tarp metų, pastebėta, kad abiejų hibridų grūduose jie kito labai panašiai. Labiausiai išsiskyrė metai, kai kukurūzų žydėjimo laikotarpiu vyravo labai sausi ir šilti orai. Abiejų hibridų grūduose nustatyti didžiausi $\check{Z}B$, NDF ir ADF kiekiai, mažiausias VTA kiekis, bei vieni didžiausių mineralinių medžiagų kiekiai. Duxxbury hibrido grūduose tais pačiais metais nustatytas ir mažiausias $\check{Z}R$ kiekis, bei didžiausias Kr kiekis, Lapriora hibrido grūduose $\check{Z}R$ kiekis reikšmingai nekito, o didžiausias Kr kiekis vis tik nustatytas lietingesniais tyrimo metais. Kinijoje atliktas tyrimas parodė, jog sausros metu sumažėjus dirvožemio drėgnumui, tai turi įtakos kukurūzų šaknų formavimuisi, o tai lemia mažesnę derlių ir mažesnę $\check{Z}R$ kiekį, tačiau neturi įtakos Kr kiekiui (Bi et al. 2019). Kito tyrimo metu pastebima, kad aukštesnė temperatūra lemia didesnę baltymų ir ląstelienos kiekį (Liu et al. 2023). Vertinant mineralinių medžiagų kiekių skirtumus tarp veislių tam tikrų dėsningumų pastebėta nebuvo. Nežymiai didesni kiekiai buvo fiksuojami tai vieno, tai kito hibrido grūduose. Kitų šalių mokslininkai tyrinėdami, kur kas platesnį spektrą kukurūzų hibridų, besiskiriančių spalva ir tipu pastebi, kad skirtumai tarp mitybinės vertės rodiklių ir mineralinių medžiagų gali būti kur kas didesni – miltiniai ir saldūs kukurūzai turi kur kas daugiau baltymų ir riebalų, kai tuo tarpu dantytojo tipo, violetiniai ir sodriai raudonos spalvos kukurūzai turi daugiau Kr , baltieji daugiau Zn , o geltonieji Fe (Oas and Adams 2022; Subrin et al. 2022). Mūsų tyrime naudoti kukurūzų hibridai, su skirtingu FAO skaičiumi, kurie Lietuvoje įprastai auginami grūdams, todėl to pačio tipo kukurūzų hibridų grūdai galėjo turėti mažiau skirtumų tarpusavyje. Vėlinant derliaus nuėmimą abiejų hibridų grūduose pastebėtas SM didėjimas, $\check{Z}B$, $\check{Z}R$, $\check{Z}L$, $\check{Z}P$, Kr , NDF ir ADF kiekiai daugeliu atveju reikšmingai nekito, tačiau vėlinant derliaus nuėmimą hibridų grūduose mažėjo VTA kiekis. Kinijoje atliktas tyrimas taip pat pastebėjo, kad 30 dienų po siūlų pasirodymo laikotarpio derliaus nuėmimo laiko vėlinimas neturėjo įtakos baltymų, riebalų, ląstelienos kitimui, o 50 dienų po siūlų pasirodymų neturėjo įtakos ir krakmolo kiekiui (Zhao et al. 2023). Didesni mineralinių medžiagų svyravimai taip pat pastebėti tyrimo metais, kuomet vyravo sausi ir šilti orai. Duxxbury hibrido grūduose P , Ca , Mg kiekiai sumažėjo II derliaus nuėmimo metu, tačiau III derliaus nuėmimo metu vėl buvo didesni, Zn kiekis sumažėjo, o Fe kiekis padidėjo, Lapriora hibrido grūduose pokyčiai buvo pastebėti tik vertinant Ca , Zn ir Fe kiekį – Ca ir Zn kiekiai mažėjo, o Fe didėjo. Lenkijos mokslininkai taip pat pastebi, kad

mineralinės medžiagos, tokios kaip Na, K, Mg, Ca, kukurūzų grūduose buvo reikšmingai mažesnės, kai derlius buvo nuimtas vėliau (Wojcieszak et al. 2020).

3.2. Miežių veislės bei derliaus nuėmimo vėlinimo įtaka mikroskopinių grybų paplitimui ir mikotoksinų koncentracijoms miežių grūduose

3.2.1. *Fusarium* spp. paplitimas miežių grūduose vėlinant derliaus nuėmimą

Bendrą užsikrėtimas *Fusarium* spp. grybais miežių grūdų mėginiuose skirtingose veislėse pateiktas 8 paveiksle. Pastebėta, jog abiejose veislėse didžiausias grūdų mėginių užterštumas nustatytas 2020 metais – užsikrėtusių mėginių kiekis siekė 67,8 proc. *Laureate* veislės grūduose 2021 metais nustatytas labai panašus užsikrėtusių mėginių kiekis, tačiau 2022 metais užsikrėtusių mėginių skaičius buvo beveik 2,5 karto mažesnis, nei 2020 ir 2021 metais ($P < 0,001$). *Luokė* veislės grūduose 2021 metais užsikrėtusių mėginių kiekis buvo 17,7 proc. mažesnis ($P < 0,05$), o 2022 metais kiekis buvo beveik 2,5 karto mažesnis nei 2020 metais ($P < 0,001$) ir 1,8 karto mažesnis nei 2021 metais ($P < 0,05$). Nors *Luokė* veislės grūduose skirtingai nei *Laureate* veislės grūduose buvo pastebimas reikšmingai mažesnis užsikrėtusių mėginių kiekis 2021 metais, vis tik skirtumų tarp veislių nei vienais iš tyrimo metų nustatyta nebuvo.

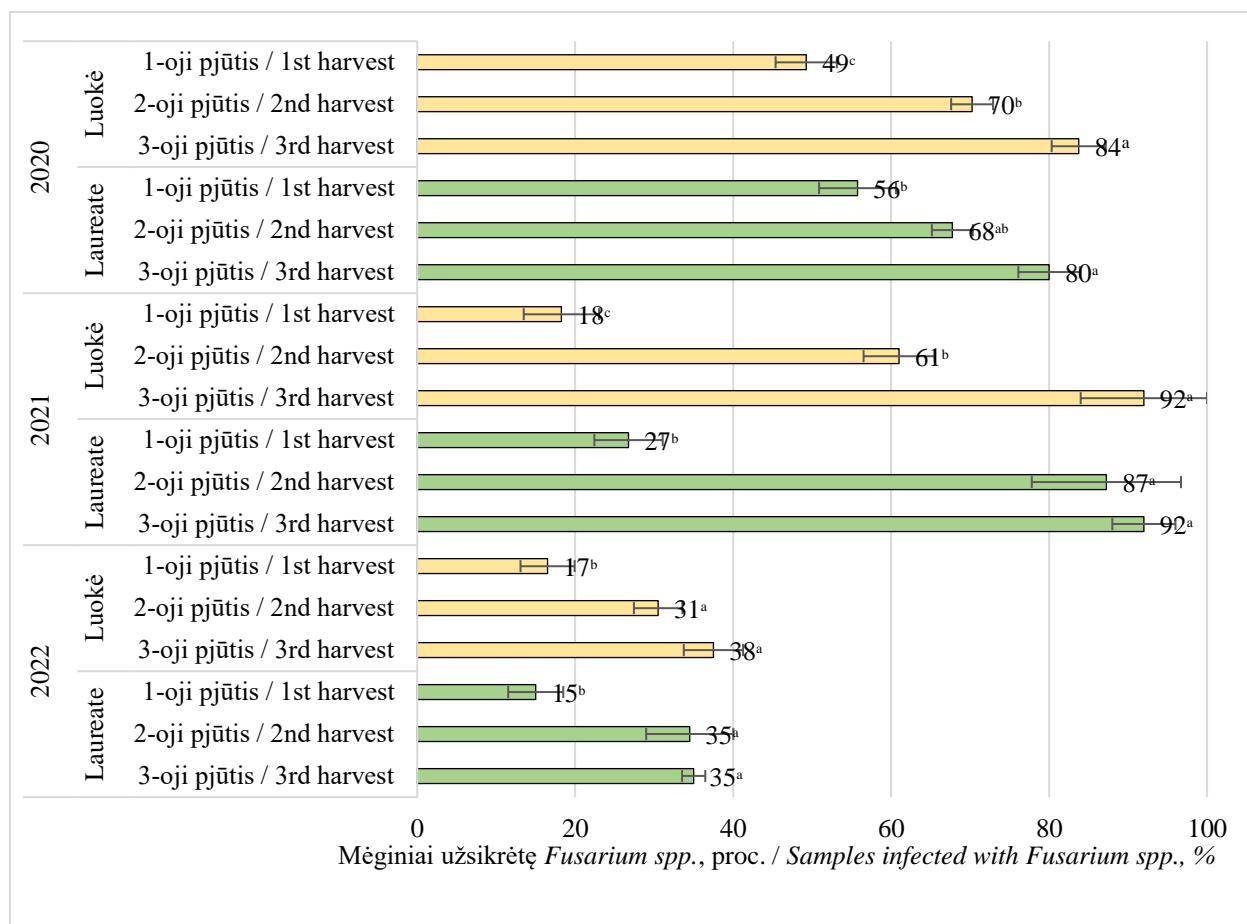


Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo reikšmingus *Fusarium* spp. kiekio skirtumus tarp veislių tais pačiais tyrimo metais. Skirtingos didžiosios raidės rodo reikšmingus *Fusarium* spp. kiekio skirtumus tarp metų tos pačios veislės grūduose. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in *Fusarium* spp. infection between varieties within the same study year. Different uppercase letters indicate statistically significant differences in *Fusarium* spp. infection between years within the same variety grains.

8 pav. *Fusarium* spp. užsikrėtusių mėginių kiekis skirtingų veislių miežių grūduose 2020–2022 metais

Fig. 8. Different varieties of barley grain samples infected with *Fusarium* spp. in 2020–2022.

Pastebima bendra tendencija – vėlinant derliaus nuėmimą bendras grūdų užsikrėtimas *Fusarium* spp. grybais didėja (9 pav.).



Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo reikšmingus *Fusarium spp.* kiekio skirtumus tarp derliaus nuėmimo laikų tos pačios veislės grūduose tais pačiais tyrimo metais. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in *Fusarium spp.* infection between harvests within the same year and variety grain samples.

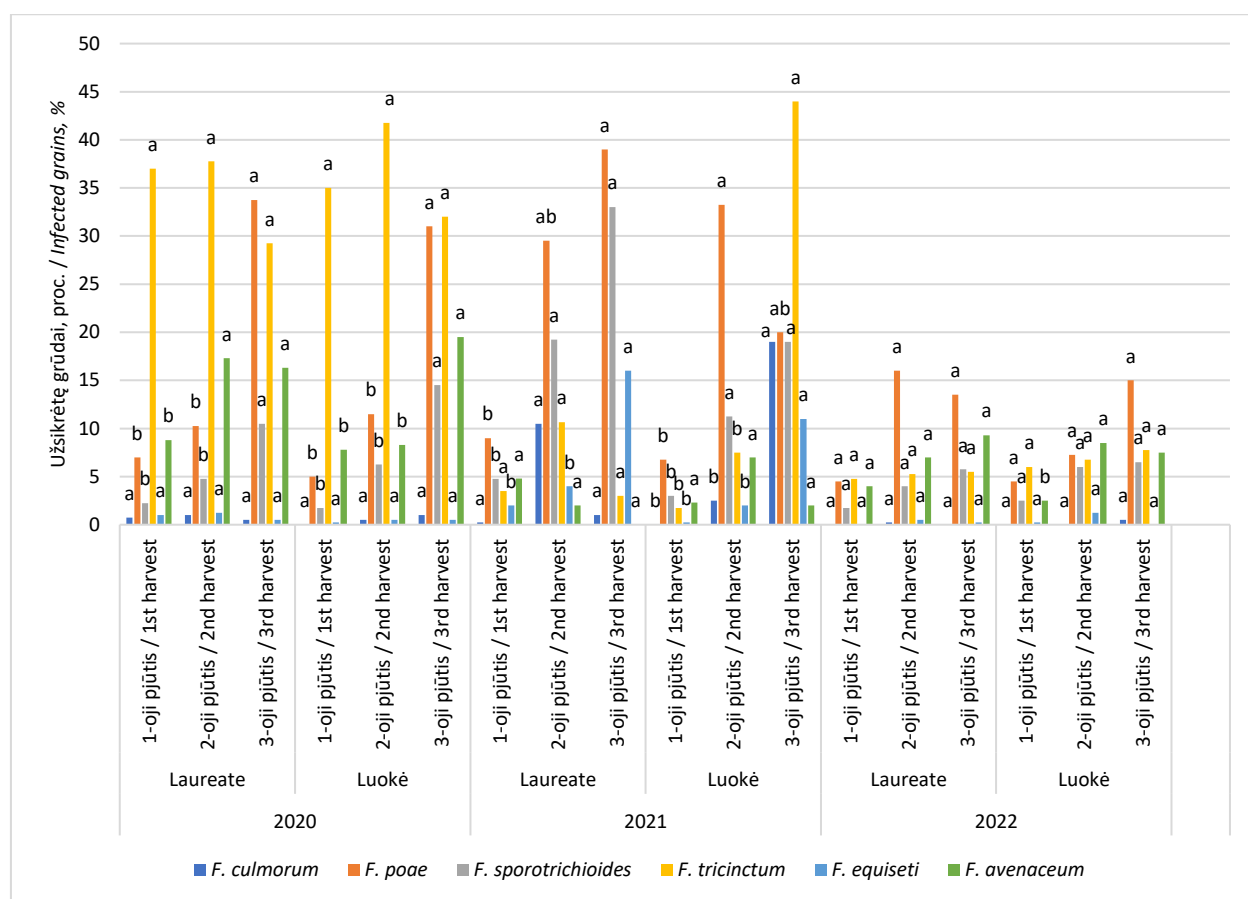
9 pav. *Fusarium spp.* užsikrėtusių miežių grūdų mėginių kiekis skirtingose veislėse, vėlinant derliaus nuėmimo laiką 2020–2022 metais

Fig. 9. The amount of barley grain samples infected with *Fusarium spp.* in different barley varieties and at delayed harvest time in 2020–2022

Laureate veislės grūduose 2020 metais užsikrėtimas padidėjo 24 proc. III derliaus nuėmimo metu lyginant su I derliaus nuėmimu ($P < 0,01$). Vėlesniais tyrimo metais reikšmingai didesnis užsikrėtimas buvo nustatytas jau II derliaus nuėmimo metu ($P < 0,01$), o III derliaus nuėmimo metu užsikrėtimas buvo dar didesnis lyginant su I derliaus nuėmimu ($P < 0,001$) (2021 metais II ir III derliaus nuėmimo metu užsikrėtimas padidėjo maždaug 3 kartus, o 2022 metais 2 kartus). *Luokė* veislės grūduose 2020 ir 2021 metais užsikrėtimas reikšmingai didėjo su kiekviena derliaus nuėmimu. Užsikrėtimas I derliaus nuėmimo metu 2020 metais siekė 49 proc., II derliaus nuėmimo metu užsikrėtimas buvo padidėjęs iki 70 proc. (lyginant su I derliaus nuėmimu $P < 0,01$), o III derliaus nuėmimo metu jau siekė 84 proc. (lyginant su I derliaus nuėmimu $P < 0,001$, lyginant su II $P < 0,05$). 2021 tyrimo metais I derliaus nuėmimo metu *Fusarium spp.* grybais užsikrėtusių grūdų buvo aptikta tik 18 proc., tačiau vėlinant derliaus

nuėmimą užsikrėtimas padidėjo 3 kartus (lyginant su I derliaus nuėmimu ($P < 0,01$), o paskutinio derliaus nuėmimo metu užsikrėtimas jau buvo 5 kartus didesnis (lyginant su I derliaus nuėmimu $P < 0,001$, lyginant su II $P < 0,05$). 2022 tyrimo metais užsikrėtimas *Luokė* veislės grūduose lyginant su I derliaus nuėmimu padidėjo maždaug 2 kartus tiek II ($P < 0,05$), tiek III ($P < 0,01$) derliaus nuėmimo metu.

Rūšinė įvairovė tyrimo laikotarpio metu beveik nekito ir kiekvienais metais buvo aptiktų tam tikra rūšimi užsikrėtusių grūdų. Kasmet buvo aptiktos šios *Fusarium* rūšys: *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae*, *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum*, *F. langsethiae*, *F. equiseti*. Kai kurie grūdai buvo užsikrėtę net keliomis *Fusarium* rūšimis. *F. langsethiae* nebuvo aptikta tik 2022 metais abiejų veislių grūduose. Dažniausiai miežių grūduose vėlinant derliaus nuėmimą aptiktos *Fusarium* rūšys pavaizduotos 10 paveiksle.



Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo reikšmingus tam atskirų *Fusarium* spp. kiekių skirtumus tarp derliaus nuėmimo laikų tos pačios veislės grūduose tais pačiais tyrimo metais. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in particular *Fusarium* spp. infection between harvests within the same year and variety grain samples.

10 pav. *Fusarium* spp. grybų rūšinės sudėties kitimas skirtingų veislių miežių grūduose vėlinant derliaus nuėmimą 2020–2022 metais

Fig. 10. The amount of barley grain samples infected with particular *Fusarium* spp. across different varieties and harvest times in 2020–2022

Abiejų veislių grūduose 2021 metais nustatytas didesnis užsikrėtimas *F. culmorum*. Tais pačiais metais *Luokė* veislės grūduose III derliaus nuėmimo metu pastebimas ir reikšmingas užsikrėtimo padidėjimas lyginant su I ir II derliaus nuėmimais ($P < 0,001$).

Pastebimas gan dažnas užsikrėtimas *F. poae* mikroskopiniais grybais. 2020 metais *Laureate* veislės grūduose užsikrėtimas III derliaus nuėmimo metu buvo didesnis 5 kartais lyginant su I derliaus nuėmimu ir 3 kartais lyginant su II ($P < 0,05$). *Luokė* veislės grūduose užsikrėtimas III derliaus nuėmimo metu buvo didesnis 6 kartais lyginant su I derliaus nuėmimu ir 3 kartais lyginant su II ($P < 0,01$). 2021 tyrimo metais skirtumai tarp derliaus nuėmimo laikų *Laureate* veislės grūduose pastebimi tik lyginant I ir III derliaus nuėmimus. *Laureate* veislės grūduose III derliaus nuėmimo metu užsikrėtimas buvo 4 kartus didesnis ($P < 0,05$). Skirtumai tarp jūčių *Luokė* veislės grūduose pastebimi tik lyginant I ir II derliaus nuėmimus. *Luokė* veislės grūduose užsikrėtimas buvo 5 kartus didesnis ($P < 0,01$) II derliaus nuėmimo metu. 2022 tyrimo metais skirtumų tarp derliaus nuėmimo laikų pastebėta nebuvo.

Taip 2021 metais nustatytas ir didesnis užsikrėtimas *F. sporotrichioides*. Pastebėta, kad *Laureate* veislės grūduose 2020 metais užsikrėtimas III derliaus nuėmimo padidėjo 4,5 karto lyginant su I derliaus nuėmimu ir 2 kartus lyginant su II ($P < 0,001$), o 2021 metais užsikrėtimas buvo 4 kartus didesnis jau II derliaus nuėmimo metu ($P < 0,05$). *Luokė* veislės grūduose užsikrėtimą taip pat didėjo vėlinant derliaus nuėmimą. Pastebėta, kad 2020 metais užsikrėtimas III derliaus nuėmimo metu padidėjo 8 kartus lyginant su I derliaus nuėmimu ($P < 0,01$) ir 2 kartus lyginant su II ($P < 0,05$). 2021 tyrimo metais nustatyta ta pati tendencija kaip ir *Laureate* veislės grūduose, kai užsikrėtimas beveik 4 kartus reikšmingai didėjo jau II derliaus nuėmimo metu ($P < 0,05$). 2022 tyrimo metais, užsikrėtimas buvo nedidelis visais derliaus nuėmimo laikais ir buvo aptinkama iki 6,5 proc. *F. sporotrichioides* užsikrėtusių grūdų mėginyje, todėl reikšmingų skirtumų tarp derliaus nuėmimo laikų nepastebėta.

Abiejų veislių grūduose 2020 metais daugiausiai grūdų buvo užsikrėtusių *F. tricinatum*. Visais derliaus nuėmimo laikais užsikrėtimas vidutiniškai siekė 35 proc., o skirtumų tarp jūčių pastebėta nebuvo. 2021 tyrimo metais pastebėtas reikšmingas padidėjimas tik *Luokė* veislės grūduose III derliaus nuėmimo metu lyginant su I ir II derliaus nuėmimais. *Luokė* veislės grūduose padidėjo nuo 1,8 proc. I derliaus nuėmimo metu iki 44 proc. III derliaus nuėmimo metu ($P < 0,001$). 2022 tyrimo metais, užsikrėtimas buvo nedidelis visų derliaus nuėmimų metu ir buvo aptinkama iki 7,8 proc. *F. tricinatum* užsikrėtusių grūdų mėginyje, todėl reikšmingų skirtumų tarp derliaus nuėmimų nepastebėta.

Iki 1,3 proc. grūdų mėginyje 2020 ir 2022 buvo užsikrėtę *F. equiseti*. Išsiskyrė tik 2021 metai, kai III derliaus nuėmimo metu *Laureate* veislės grūduose užsikrėtimas siekė 16 proc., o

Luokė veislės grūduose 11 proc. ir buvo reikšmingai didesnis nei I ($P < 0,001$) ir II ($P < 0,01$) derliaus nuėmimo metu.

Pastebimas reikšmingas grūdų užterštumo didėjimas *F. avenaceum* grybais. Grūdų užkrėstumas reikšmingai didėjo 2020 metais abiejų veislių grūduose. *Laureate* veislės grūduose užsikrėtimas II ir III derliaus nuėmimo metu vidutiniškai buvo 8,0 proc. didesnis ($P < 0,05$), o *Luokė* veislės grūduose III derliaus nuėmimo metu vidutiniškai 11,5 proc. didesnis ($P < 0,05$). Taip pat reikšmingas užsikrėtimo padidėjimas pastebimas ir 2022 metais *Luokė* veislės grūduose. II ir III derliaus nuėmimo metu užsikrėtimas buvo vidutiniškai 5,5 proc. didesnis ($P < 0,05$).

Buvo aptinkami tik pavieniai užsikrėtimai *F. graminearum* (iki 2 proc. grūdų mėginyje) ir *F. langsethiae* (iki 3,8 proc. grūdų mėginyje), o tarp derliaus nuėmimo laikų užsikrėtimas reikšmingai nekito.

Apibendrinimas ir diskusija. Intensyviausias užsikrėtimas *Fusarium spp.* grybais abiejų veislių grūduose pastebimas vegetacijos metu vyraujant sausesniems ir šiltesniems orams, o derliaus nuėmimo metu lietingesniems orams, tačiau užsikrėtimo intensyvumas tarp veislių nesiskyrė. Vėlinant derliaus nuėmimą, mėginių, kurie buvo užsikrėtę *Fusarium spp.* grybais kiekis didėjo. Stebint rūšinę sudėtį abiejų veislių grūduose vyravo užsikrėtimas *F. culmorum*, *F. poae*, *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum* ir *F. equiseti*, o vėlinant derliaus nuėmimą pastebimas intensyvesnis miežių grūdų užsikrėtimas šiais mikroskopiniais grybais. Vėlinant derliaus nuėmimą pastebimas reikšmingas *F. poae*, *F. sporotrichioides*, *F. equiseti*, *F. culmorum* bei *F. tricinctum* užsikrėtimo padidėjimas. Vegetacijos laikotarpiu vyraujant lietingesniems orams, tačiau derliaus nuėmimo metu vyraujant sausiems ir šiltesniems orams užsikrėtimas *Fusarium spp.* buvo nedidelis ir pokyčių tarp derliaus nuėmimo laikų nepastebėta. Anksčiau vykdytuose tyrimuose taip pat teigiama, jog vienos iš dažniausiai aptinkamų *Fusarium spp.* miežiuose yra *F. poae*, *F. culmorum*, *F. sporotrichioides*, *F. equiseti*, tačiau gana dažnai aptinkama ir *F. avenaceum* bei *F. graminearum* (Hietaniemi et al. 2016; Islam et al. 2022; Piacentini et al. 2019). Kanadoje atliktas tyrimas patvirtino, kad vėlinant derliaus nuėmimą miežių grūduose didėja užsikrėtimas *Fusarium spp.* grybais. Jų tyrimo metu užsikrėtimas padidėjo nuo 6,9 iki 13,9 proc. (Xue et al. 2013).

3.2.2. DON, T-2, HT-2, ZEA ir AFL_{B1+B2+G1+G2} paplitimas miežių grūduose vėlinant derliaus nuėmimą

DON koncentracijos visą tyrimo laikotarpį buvo žemiau aptikimo ribos (9 lentelė). Panaši tendencija pastebima ir vertinant T-2 toksino koncentracijas, tačiau šiuo atveju T-2 buvo aptinkamas tik 2020 metais *Luokė* veislės grūduose. Didesnės koncentracijos nustatytos tik vertinant užterštumą HT-2 ir ZEA mikotoksinais. HT-2 didžiausios koncentracijos buvo

aptinkamos 2020 metais, o ZEA 2021 metais. HT-2 koncentracijos *Laureate* veislės grūduose buvo 3 kartus didesnės nei 2022 metais ir 2021 metais ($P < 0,01$). *Luokė* veislės grūduose HT-2 koncentracija buvo beveik 5 kartus didesnė nei 2021 metais ($P < 0,001$), o 2022 metais HT-2 kiekis buvo žemiau aptikimo ribos. Vidutinė ZEA koncentracija 2020 metais buvo žemiau aptikimo ribos, o 2021 metais abiejų veislių grūduose koncentracijos buvo beveik 11 kartų didesnės nei 2022 metais ($P < 0,001$). Įvertinus bendrą AFL_{B1+B2+G1+G2} koncentraciją 2022 metais ji buvo žemiau aptikimo ribos, o 2020 ir 2021 aptiktos koncentracijos buvo labai nedidelės - šiek tiek virš žemiausios aptikimo ribos.

9 lentelė. Deoksinivalenolio (DON), T-2, HT-2, zearalenono (ZEA) ir aflatoksinų (AFL_{B1+B2+G1+G2}) koncentracijos skirtingų veislių miežių grūduose 2020–2022 metais

Table 9. Concentrations of deoxynivalenol (DON), T-2, HT-2, zearalenone (ZEA) and aflatoxins (AFL_{B1+B2+G1+G2}) in different varieties of barley grains in 2020–2022

Metai/ Year	Veislė/ Variety	DON	T-2	HT-2	ZEA	AFL B1+B2+G1+G2
2020	<i>Laureate</i>	< LOD	< LOD	47 ^{ba} ± 10	< LOD	1,8 ^{aA} ± 0,3
	<i>Luokė</i>	< LOD	35 ± 8	112 ^{aA} ± 21	< LOD	2,0 ^{aA} ± 0,6
2021	<i>Laureate</i>	< LOD	< LOD	16 ^{aB} ± 5	433 ^{aA} ± 138	1,8 ^{aA} ± 0,2
	<i>Luokė</i>	< LOD	< LOD	23 ^{aB} ± 8	488 ^{aA} ± 110	1,8 ^{aA} ± 0,1
2022	<i>Laureate</i>	< LOD	< LOD	15 ^B ± 4	35 ^{aB} ± 6	< LOD
	<i>Luokė</i>	< LOD	< LOD	< LOD	49 ^{aB} ± 15	< LOD

Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo mikotoksino koncentracijų statistiškai reikšmingus skirtumus tarp veislių tais pačiais tyrimo metais. Skirtingos didžiosios raidės rodo mikotoksinų koncentracijų statistiškai reikšmingus skirtumus tarp metų tos pačios veislės grūduose. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentration between varieties within the same study year. Different uppercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentration between years within the same variety grains.

Vertinant skirtumus tarp veislių, pastebėta, kad T-2 toksino 2020 metais *Laureate* veislės grūduose vidutinė koncentracija buvo žemiau aptikimo ribos, tuo tarpu *Luokė* veislės grūduose šio toksino buvo aptikta apie 35 µg kg⁻¹. HT-2 koncentracija 2020 metais buvo 2 kartus didesnė *Luokė* nei *Laureate* veislės grūduose ($P < 0,05$), tačiau 2022 metais, kai *Luokė* veislės grūduose vidutinė HT-2 koncentracija buvo žemiau aptikimo ribos, *Laureate* veislės grūduose ji siekė 15 µg kg⁻¹. Vertinant DON, ZEA ir AFL_{B1+B2+G1+G2} koncentracijas skirtumų tarp veislių nepastebėta.

Mikotoksinų koncentracijų skirtumai tarp derliaus nuėmimo laikų pateikti 10 lentelėje. Vertinant skirtumus tarp derliaus nuėmimo laikų vidutinė DON koncentracija šiek tiek aukštesnė nei žemiausia aptikimo riba buvo nustatyta tik *Laureate* veislės grūduose 2020 metais III derliaus nuėmimo metu, T-2 toksino tik 2020 metais *Laureate* veislės grūduose I derliaus nuėmimo metu

ir *Luokė* veislės grūduose I ir II derliaus nuėmimo metu, todėl reikšmingų skirtumų tarp derliaus nuėmimo laikų nebuvo.

10 lentelė. Deoksinivalenolio (DON), T-2, HT-2, zearalenono (ZEA) ir aflatoksinų (AFL_{B1+B2+G1+G2}) koncentracijų kitimas skirtingų veislių miežių grūduose 2020–2022 metais vėlinant derliaus nuėmimą

Table 10. Changes in concentration of deoxynivalenol (DON), T-2, HT-2, zearalenone (ZEA) and aflatoxins (AFL_{B1+B2+G1+G2}) at different harvest times and different varieties of barley grains in 2020–2022

Metai / Year	Veislė / Variety	Derliaus nuėmimas / Harvest	DON	T-2	HT-2	ZEA	AFL B1+B2+G1+G2
2020	<i>Laureate</i>	I	< LOD	27 ± 7	85 ^a ± 33	< LOD	< LOD
		II	< LOD	< LOD	42 ^a ± 15	< LOD	1,8 ^b ± 0,1
		III	53 ± 19	< LOD	14 ^a ± 7	< LOD	2,5 ^a ± 0,3
	<i>Luokė</i>	I	< LOD	53 ^a ± 17	159 ^a ± 96	< LOD	< LOD
		II	< LOD	36 ^a ± 9	126 ^a ± 42	< LOD	< LOD
		III	< LOD	< LOD	50 ^a ± 23	< LOD	4,7 ± 0,2
2021	<i>Laureate</i>	I	< LOD	< LOD	14 ^a ± 8	362 ^a ± 187	< LOD
		II	< LOD	< LOD	25 ^a ± 10	427 ^a ± 309	2,2 ^a ± 0,3
		III	< LOD	< LOD	< LOD	511 ^a ± 52	2,1 ^a ± 0,1
	<i>Luokė</i>	I	< LOD	< LOD	29 ^a ± 7	469 ^a ± 103	1,7 ^b ± 0,1
		II	< LOD	< LOD	24 ^a ± 20	393 ^a ± 239	1,7 ^b ± 0,2
		III	< LOD	< LOD	11 ^a ± 1	719 ^a ± 250	2,4 ^a ± 0,1
2022	<i>Laureate</i>	I	< LOD	< LOD	< LOD	47 ^a ± 11	< LOD
		II	< LOD	< LOD	14 ^a ± 5	36 ^a ± 7	< LOD
		III	< LOD	< LOD	22 ^a ± 8	22 ^a ± 17	< LOD
	<i>Luokė</i>	I	< LOD	< LOD	< LOD	25 ^a ± 18	< LOD
		II	< LOD	< LOD	< LOD	52 ^a ± 49	< LOD
		III	< LOD	< LOD	< LOD	71 ^a ± 38	< LOD

Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo mikotoksino koncentracijų statistiškai reikšmingus skirtumus tarp derliaus nuėmimo laikų tais pačiais tyrimo metais tos pačios veislės grūduose. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentration between harvests within the same year and variety grains.

HT-2 2020 metais buvo aptinkamas visais derliaus nuėmimo laikais. Nors nustatytos koncentracijos kai kuriuose mėginiuose buvo didelės, tačiau dėl didelių koncentracijų skirtumų tarp pakartojimų, vėlinant derliaus nuėmimą pokyčių nepastebėta. HT-2 koncentracijos 2021 metais daugeliu buvo šiek tiek didesnės nei žemiausia aptikimo riba, tačiau skirtumų tarp derliaus nuėmimo laikų taip pat nepastebėta. 2022 tyrimo metais didesnės koncentracijos nei žemiausia aptikimo riba nustatytos tik I ir III derliaus nuėmimo metu *Laureatė* veislės grūduose, tačiau jos reikšmingai tarp derliaus nuėmimo laikų nesiskyrė.

Didžiausios ZEA koncentracijos buvo fiksuojamos 2021 metais abiejų veislių grūduose, tačiau dėl didelių koncentracijų skirtumų tarp pakartojimų, skirtumų tarp derliaus nuėmimo laikų pastebėta nebuvo. 2022 ZEA koncentracijos buvo tik šiek tiek didesnės už mažiausią aptikimo ribą, o 2020 metais vidutinės koncentracijos šios ribos nesiekė.

Bendra AFL_{B1+B2+G1+G2} koncentracija nustatyta tyrimo metu buvo nedidelė ir koncentracijos viršijusios žemiausią aptikimo ribą buvo nustatytos tik 2020 ir 2021 metais. 2020 metais abiejų veislių grūduose I derliaus nuėmimo metu nustatytos koncentracijos buvo žemiau aptikimo ribos, vėlinant derliaus nuėmimą *Laureate* veislės grūduose didesnės koncentracijos fiksuojamos jau po II derliaus nuėmimo, o III derliaus nuėmimo metu koncentracija reikšmingai padidėjo dar 0,7 μg kg⁻¹ lyginant su II derliaus nuėmimu (P < 0,05). *Luokė* veislės grūduose koncentracija viršijusi žemiausia aptikimo ribą nustatyta tik III derliaus nuėmimo metu ir siekė 4,7 μg kg⁻¹, koncentracija buvo beveik 2 kartus didesnė nei *Laureate* veislės grūduose III derliaus nuėmimo metu (P < 0,05). 2021 tyrimo metais *Laureate* veislės grūduose I derliaus nuėmimo metu koncentracija buvo žemiau aptikimo ribos, tačiau II ir III derliaus nuėmimo metu koncentracija viršijo šią ribą ir siekė apie 2,2 μg kg⁻¹. *Luokė* veislės grūduose I ir II derliaus nuėmimo metu koncentracija buvo ant aptikimo ribos (1,7 μg kg⁻¹), o III derliaus nuėmimo metu reikšmingai padidėjo iki 2,4 μg kg⁻¹ (P < 0,05).

Įvertinus bendrą abiejų veiksnių (veislės ir derliaus nuėmimo laiko) poveikį mikotoksinų koncentracijų pokyčiams, pastebėta, jog 2020 ir 2021 metais pasirinktos veislės ir derliaus nuėmimo laiko sąveika turėjo reikšmingos įtakos bendrai AFL_{B1+B2+G1+G2} koncentracijai (2020 metais P < 0,001, 2021 metais P < 0,05).

Analizuotų mikotoksinų koncentracijos neviršijo Europos Komisijos nustatytų didžiausių leistinų kiekių gyvūnų pašaruose (1 lentelė).

3.2.3. MON, NIV ir eniatinų paplitimas miežių grūduose vėlinant derliaus nuėmimą

Taip pat buvo nustatytas užterštumas mikotoksinais, kurių didžiausių leistinų kiekių Europos Komisija nereglamentuoja (MON, NIV, ENN B, B1, A, A1) (11 lentelė). Nedidelės koncentracijos MON buvo aptiktos 2020 metais, o 2021 ir 2022 metais užterštumo šiuo mikotoksinu nepastebėta. Reikšmingai išsiskyrė NIV ir ENN B, B1 ir A koncentracijos 2022 metais. *Laureate* veislės grūduose NIV koncentracijos buvo atitinkamai 9 ir 21 kartų, o ENN B1 koncentracijos 3 ir 10 kartų didesnės nei 2020 ir 2021 metais (P < 0,001). *Luokė* veislės grūduose NIV koncentracijos buvo atitinkamai 5 ir 11 kartų, o ENN B1 koncentracijos 1,7 ir 2,6 karto didesnės nei 2020 ir 2021 metais (P < 0,001). ENN B ir A koncentracijos 2021 metais nesiekė žemiausios aptikimo ribos. Lyginant tų pačių mikotoksinų koncentracijas 2020 ir 2022 metais, nustatyta, jog 2022 metais *Laureate* veislės grūduose ENN B ir A koncentracijos atitinkamai buvo 3,6 karto ir 5 kartus didesnės, o *Luokė* veislės grūduose 1,5 ir 1,8 karto didesnės nei 2020 metais (P < 0,001).

Vertinant skirtumus tarp veislių, nustatyta, jog 2020 metais *Laureate* veislės grūduose buvo $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ didesnė MON koncentracija ($P < 0,01$), tačiau 14 ir $13 \mu\text{g kg}^{-1}$ mažesnė atitinkamai lyginant NIV ($P < 0,05$) ir ENN A ($P < 0,05$) koncentracijas. 2021 tyrimo metais tarp veislių išsiskyrė ENN B1 koncentracijos – *Laureate* veislės grūduose koncentracija buvo 2 kartus mažesnė ($P < 0,01$) ir siekė $23 \mu\text{g kg}^{-1}$. 2022 tyrimo metais didesnės ENN koncentracijos pastebimos *Laureate* veislės grūduose. ENN B, B1 ir A1 koncentracijos atitinkamai buvo 128 ($P < 0,01$), 87 ($P < 0,05$) ir 11 ($P < 0,05$) $\mu\text{g kg}^{-1}$ didesnės.

11 lentelė. Moniliformino (MON), nivalenolio (NIV) ir ENN B, B1, A, A1 koncentracijų kitimas skirtingų veislių miežių grūduose 2020–2022 metais

Table 11. Changes in concentration of moniliformin (MON), nivalenol (NIV) and ENN B, B1, A, A1 in different varieties of barley grains in 2020–2022

Metai / Year	Veislė / Variety	MON	NIV	ENN B	ENN B1	ENN A	ENN A1
2020	<i>Laureate</i>	$12^a \pm 2$	$29^{bb} \pm 4$	$81^{ab} \pm 9$	$89^{ab} \pm 10$	$16^{bb} \pm 2$	< LOD
	<i>Luokė</i>	$2^b \pm 1$	$43^{ab} \pm 4$	$106^{ab} \pm 9$	$87^{ab} \pm 12$	$29^{ab} \pm 5$	$5^A \pm 2$
2021	<i>Laureate</i>	< LOD	$13^{ab} \pm 4$	< LOD	$23^{bc} \pm 4$	< LOD	< LOD
	<i>Luokė</i>	< LOD	$20^{ab} \pm 5$	< LOD	$57^{ab} \pm 8$	< LOD	< LOD
2022	<i>Laureate</i>	< LOD	$274^{aA} \pm 39$	$289^{aA} \pm 32$	$235^{aA} \pm 29$	$84^{aA} \pm 13$	$21^a \pm 4$
	<i>Luokė</i>	< LOD	$217^{aA} \pm 25$	$161^{bA} \pm 20$	$148^{bA} \pm 21$	$53^{aA} \pm 9$	$10^{bA} \pm 3$

Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo mikotoksino koncentracijų statistiškai reikšmingus skirtumus tarp veislių tais pačiais tyrimo metais. Skirtingos didžiosios raidės rodo mikotoksinų koncentracijų statistiškai reikšmingus skirtumus tarp metų tos pačios veislės grūduose. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentration between varieties within the same study year. Different uppercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentration between years within the same variety grains.

Vertinant MON, NIV ir ENN B, B1, A ir A1 koncentracijų skirtumus tarp derliaus nuėmimo laikų 2020 ir 2021 metais reikšmingų pokyčių vėlinant derliaus nuėmimą nepastebėta (12 lentelė). Tuo tarpu 2022 metais, kai buvo nustatytos didžiausios NIV ir ENN koncentracijos, vėlinant derliaus nuėmimą reikšmingas koncentracijų padidėjimas III derliaus nuėmimo metu. *Laureate* veislės grūduose NIV, ENN B, B1, A, A1 koncentracijos III derliaus nuėmimo metu padidėjo atitinkamai 205 , 120 , 132 , 62 ir $23 \mu\text{g kg}^{-1}$ lyginant su I derliaus nuėmimu ($P < 0,05$). *Luokė* veislės grūduose ENN B, B1, A, A1 koncentracijos III derliaus nuėmimo metu padidėjo vidutiniškai apie 72 , 100 , 46 ir $14 \mu\text{g kg}^{-1}$ lyginant su pirmaisiais dviem derliaus nuėmimais ($P < 0,05$).

Reikšmingų sąveikų, įvertinus bendrą abiejų veiksnių (veislės pasirinkimo ir derliaus nuėmimo laiko) poveikį MON, NIV ir eniatinų B, B1, A ir A1 koncentracijų pokyčiams, nepastebėta.

12 lentelė. Moniliformino (MON), nivalenolio (NIV) ir eniatinų (ENN) B, B1, A, A1 koncentracijų kitimas skirtingų veislių miežių grūduose 2020–2022 metais vėlinant derliaus nuėmimą

Table 12. Changes in concentration of moniliformin (MON), nivalenol (NIV) and enniatins (ENN) B, B1, A, A1 at different harvest times and different varieties of barley grains in 2020–2022

Metai / Year	Veislė / Variety	Derliaus nuėmimas / Harvest	MON	NIV	ENN B	ENN B1	ENN A	ENN A1
2020	Laureate	I	10,7 ^a ± 3,3	26 ^a ± 8	83 ^a ± 15	90 ^a ± 21	15 ^a ± 2	< LOD
		II	14,0 ^a ± 5,9	31 ^a ± 7	84 ^a ± 16	88 ^a ± 15	16 ^a ± 2	< LOD
		III	10,9 ^a ± 3,3	30 ^a ± 9	74 ^a ± 18	89 ^a ± 19	16 ^a ± 4	< LOD
	Luokė	I	2,9 ^a ± 2,6	40 ^a ± 5	101 ^a ± 19	89 ^a ± 23	34 ^a ± 9	7 ^a ± 1
		II	3,1 ^a ± 2,6	51 ^a ± 9	114 ^a ± 16	88 ^a ± 25	25 ^a ± 9	4 ^a ± 1
		III	0,7 ^a ± 0,5	39 ^a ± 5	103 ^a ± 13	85 ^a ± 21	29 ^a ± 11	4 ^a ± 1
2021	Laureate	I	< LOD	9 ^a ± 3	< LOD	21 ^a ± 5	< LOD	< LOD
		II	< LOD	17 ^a ± 8	< LOD	26 ^a ± 9	< LOD	< LOD
		III	< LOD	12 ^a ± 8	< LOD	21 ^a ± 11	< LOD	< LOD
	Luokė	I	< LOD	16 ^a ± 7	< LOD	57 ^a ± 16	< LOD	< LOD
		II	< LOD	23 ^a ± 9	< LOD	59 ^a ± 15	< LOD	< LOD
		III	< LOD	21 ^a ± 11	< LOD	51 ^a ± 17	< LOD	< LOD
2022	Laureate	I	< LOD	196 ^b ± 42	219 ^b ± 24	171 ^b ± 18	56 ^b ± 7	11 ^b ± 4
		II	< LOD	225 ^b ± 31	299 ^{ab} ± 76	232 ^{ab} ± 49	77 ^{ab} ± 18	18 ^{ab} ± 4
		III	< LOD	401 ^a ± 78	339 ^a ± 50	303 ^a ± 58	118 ^a ± 29	34 ^a ± 7
	Luokė	I	< LOD	232 ^a ± 70	155 ^b ± 24	137 ^b ± 29	49 ^b ± 13	8 ^b ± 5
		II	< LOD	187 ^a ± 14	119 ^b ± 32	93 ^b ± 10	26 ^b ± 4	4 ^b ± 3
		III	< LOD	231 ^a ± 33	209 ^a ± 30	215 ^a ± 35	83 ^a ± 13	20 ^a ± 3

Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo mikotoksino koncentracijų statistiškai reikšmingus skirtumus tarp derliaus nuėmimo laikų tais pačiais tyrimo metais tos pačios veislės grūduose. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentration between harvests within the same year and variety grains.

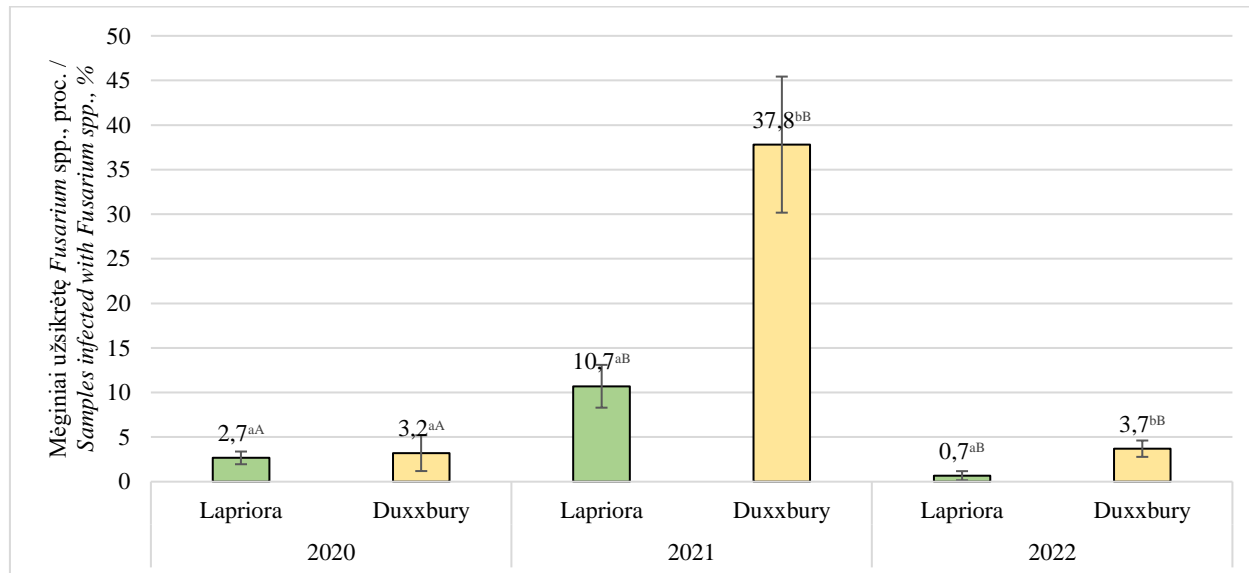
*Apibendrinimas ir diskusija. Miežių grūduose kiekvienais tyrimo metais buvo aptinkamas skirtingas mikotoksinų spektras. Tyrimo metais, kuomet kritulių kiekis ir temperatūra buvo artimi vidutiniam kritulių kiekiui ir temperatūrai, reikšmingai didesnės buvo HT-2 toksino koncentracijos. Vegetacijos metu vyraujant sausiems ir šiltiems orams, o derliaus nuėmimo metu lietingiems ir vėsiems orams buvo aptinkamos reikšmingai didesnės ZEA koncentracijos. Vegetacijos metu vyraujant lietingiems orams, o derliaus nuėmimo metu sausiems ir šiltiems orams, aptiktos reikšmingai didesnės NIV ir ENN B, B1, A ir A1 koncentracijos. Tokias pačias tendencijas pastebi ir kiti mokslininkai. Vokietijoje, Prancūzijoje ir Norvegijoje atlikti tyrimai parodė, kad po ilgesnių lietingų periodų dažniau pastebimas didesnis užterštumas *F. avenaceum* ir tuo pačiu stipresnis miežių ir avižių grūdų užterštumas ENN (Hofgaard et al. 2016; Hoheneder et al. 2022; Orlando et al. 2019). Estijos mokslininkai taip pat pastebi, kad vyraujant įprastiems orams, be sausrų ar labai lietingų dienų, aptinkamos didesnės T-2 ir HT-2 koncentracijos. Vegetacijos laikotarpiu vyraujant sausiems ir šiltiems orams, tačiau lietingiems ir vėsiems orams derliaus nuėmimo metu T-2 ir HT-2 miežių grūduose aptinkami tik pėdsakai, o ZEA*

koncentracijos gali reikšmingai padidėti (Karron et al. 2020; Sertova 2021). Skirtingų mikotoksinų koncentracijos pastebimos didesnės tai vienos, tai kitos veislės grūduose, tačiau tendencija, kuri parodytų vienos veislės didesnę grūdų užterštumą, nepastebėta. Vėlinant derliaus nuėmimą aptiktų DON, T-2, HT-2 ir ZEA mikotoksinų koncentracijos reikšmingai nekinto, tačiau metais kuomet buvo aptinkami AFL_{B1+B2+G1+G2}, NIV ir ENN B, B1, A, A1 mikotoksinai, pastebima, jog koncentracijos turėjo tendenciją didėti. Švedijos mokslininkai tirdami DON, ZEA, T-2 ir HT-2 toksinų koncentracijų pokyčius miežių grūduose, savaitę vėlindami derliaus nuėmimą, pokyčių taip pat nepastebėjo, tačiau buvo nustatytas DON ir ZEA koncentracijų didėjimas kukurūzų ir kviečių grūduose (Karlsson, Mellqvist, and Persson 2023).

3.3. Kukurūzų hibrido bei derliaus nuėmimo vėlinimo įtaka mikroskopinių grybų paplitimui ir mikotoksinų koncentracijoms kukurūzų grūduose

3.3.1. *Fusarium* spp. ir pūslėtųjų kūlių (*Ustilago maydis*) paplitimas kukurūzų grūduose vėlinant derliaus nuėmimą

Mėginių užsikrėtimas *Fusarium* spp. grybais pateiktas 11 paveiksle. Tyrimas parodė, jog 2021 metais meteorologinės sąlygos buvo kur kas palankesnės *Fusarium* spp. plitimui. *Lapriora* hibrido grūduose užsikrėtimas *Fusarium* spp. buvo 4 kartus didesnis nei 2020 metais ir 16 kartų didesnis 2022 (P < 0,001).



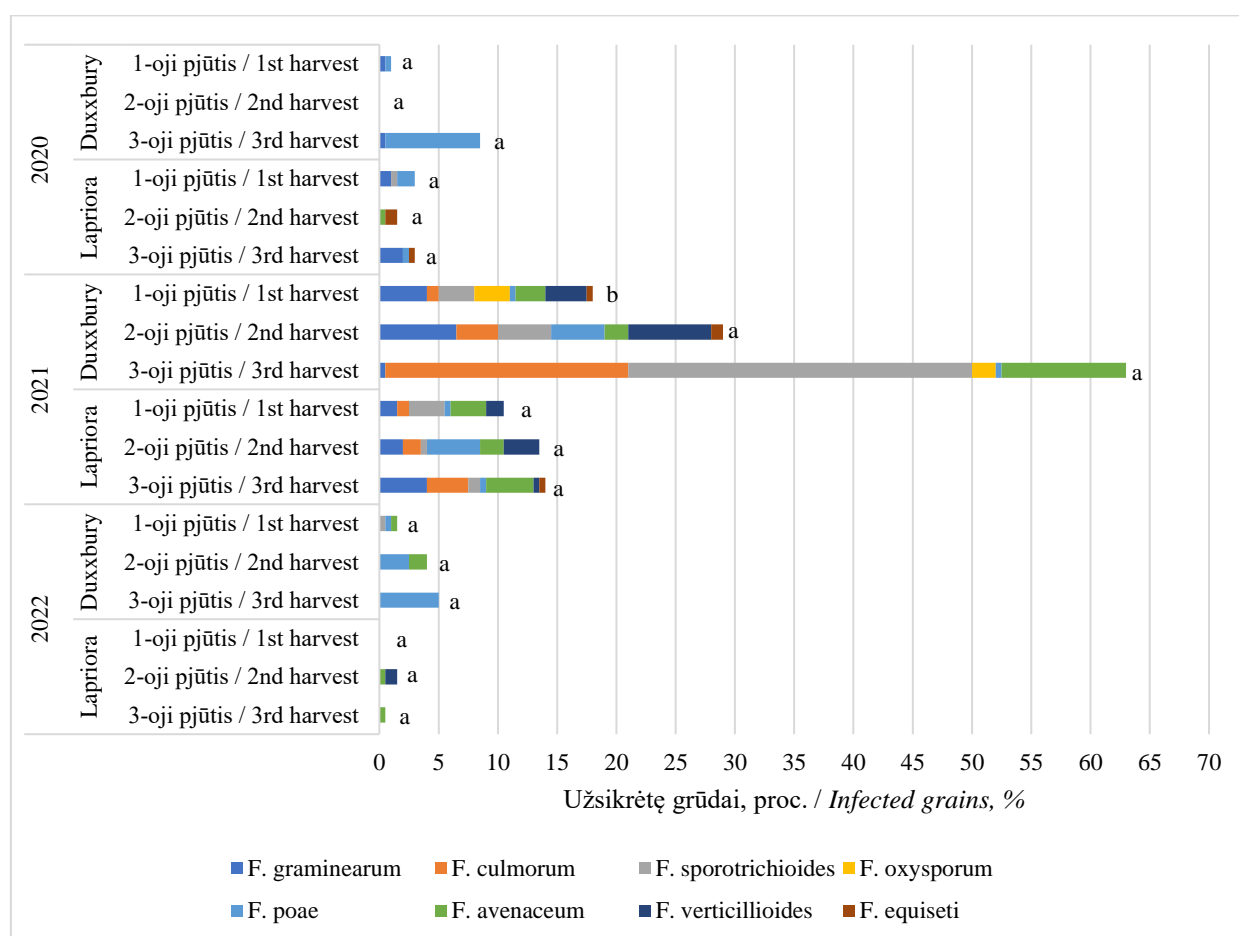
Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo reikšmingus *Fusarium* spp. kiekio skirtumus tarp hibridų tais pačiais tyrimo metais. Skirtingos didžiosios raidės rodo reikšmingus *Fusarium* spp. kiekio skirtumus tarp metų to pačio hibrido grūduose. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in *Fusarium* spp. infection between hybrids within the same study year. Different uppercase letters indicate statistically significant differences in *Fusarium* spp. infection between years within the same hybrid grains.

11 pav. *Fusarium* spp. grybais užsikrėtusių mėginių kiekis skirtingų hibridų kukurūzų grūduose 2020–2022 metais

Fig. 11. Different hybrids of maize grain samples infected with *Fusarium* spp. fungi in 2020–2022

Duxxbury hibrido grūduose užsikrėtimas *Fusarium* spp. buvo 12 kartų didesnis nei 2020 metais ir 10 kartų didesnis nei 2022 metais ($P < 0,001$). Vertinant skirtumus tarp hibridų 2020 metais abiejų hibridų grūduose užsikrėtimas nustatytas labai panašus, tačiau 2021 metais *Duxxbury* hibrido grūdai buvo užsikrėtę 4 kartus ($P < 0,01$), o 2022 metais 5 kartus ($P < 0,01$) labiau nei *Lapriora* hibrido grūdai.

Nustatytų *Fusarium* spp. grybų rūšinė sudėtis pateikta 12 paveikle. Mažiausia įvairovė pastebėta 2020 metais *Duxxbury* hibrido grūduose ir 2022 metais abiejų hibridų grūduose, o didžiausia įvairovė nustatyta 2020 metais *Lapriora* hibrido grūduose ir 2021 metais abiejų hibridų grūduose. 2021 metai pasižymėjo didesniu *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. sporotrichioides*, *F. avenaceum* bei *F. verticillioides* užkrėstų grūdų kiekiu.



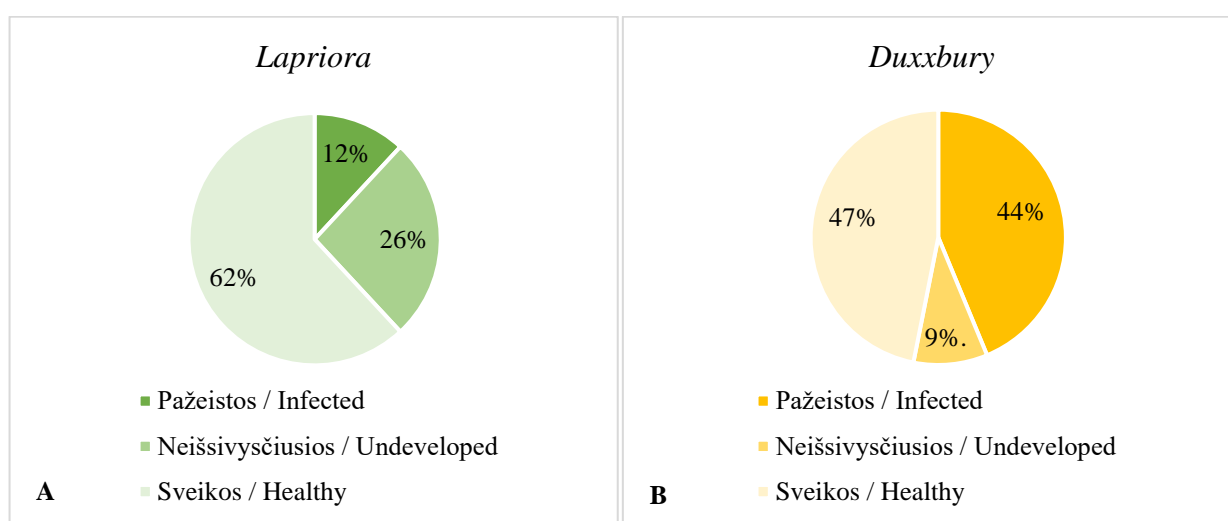
Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo reikšmingus bendro Fusarium spp. kiekio skirtumus tarp derliaus nuėmimo laikų to pačio hibrido grūduose tais pačiais tyrimo metais. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in total Fusarium spp. infection between harvests within the same year and hybrid grains.

12 pav. *Fusarium* spp. grybų rūšinės sudėties kitimas skirtingų hibridų kukurūzų grūduose vėlinant derliaus nuėmimą 2020–2022 metais

Fig. 12. *The amount of maize grain infected with particular Fusarium spp. across different hybrids and harvest times in 2020–2022*

Vertinant atskirų *Fusarium* rūšių pokyčius tarp derliaus nuėmimo laikų reikšmingų skirtumų nebuvo, tačiau pastebėta, jog 2021 metais *Duxxbury* hibrido grūduose III derliaus nuėmimo metu bendras *Fusarium* spp. grybų kiekis buvo 3 kartus didesnis nei I derliaus nuėmimo metu ($P < 0,01$) ir 2 kartus didesnis nei II derliaus nuėmimo metu ($P < 0,05$).

2021 metai buvo labai palnkūs pūslėtosioms kūlėms (*Ustilago maydis*) plisti. 2020 ir 2022 tyrimų metais užsikrėtusių burbuolių nepastebėta. Pūslėtųjų kūlių paplitimas buvo įvertintas burbuolse suskirstant į pažeistas, sveikas ir neišsivysčiusias. Rezultatai pateikti 13 paveiksle. Vertinant užsikrėtusių, sveikų ir neišsivysčiusių burbuolių skaičių nustatyta, kad *Duxxbury* hibrido pasėlis buvo 4 kartus labiau užterštas nei *Lapriora* hibrido pasėlis ($P < 0,001$). *Lapriora* hibrido pasėlyje aptikta 3 kartus daugiau neišsivysčiusių burbuolių ($P < 0,01$).



13 pav. *Ustilago maydis* plitimas *Lapriora* (A) ir *Duxxbury* (B) kukurūzų hibridų pasėliuose 2021 metais

Fig. 13. The number of cobs damaged by *Ustilago maydis* in *Lapriora* (A) and *Duxxbury* (B) maize hybrids in 2021

Apibendrinimas ir diskusija. Tai nebuvo prognozuota, tačiau kukurūzų žydėjimo metu vyraujant sausiams ir šiltiems orams, o derliaus nuėmimo metu vyraujant lietingiems orams kukurūzų pasėliuose išplito pūslėtiosios kūlės. Tais pačiais tyrimo metais nustatytas ir didžiausias užsikrėtimas *Fusarium* spp. grybais bei didelė šių grybų rūšių įvairovė abiejų hibridų grūduose. Tokius rezultatus galėjo lemti šiems patogenams palankios meteorologinės sąlygos. Naujausi moksliniai tyrimai atlikti Lenkijoje ir Ukrainoje taip pat atskleidė, kad šiltesnės ir sausesnės vasaros gali lemti *Fusarium* spp. ir pūslėtųjų kūlių išplitimą (Szulc et al. 2020; Почеменов et al. 2021). Kalbant apie *Fusarium* spp. grybų rūšinę įvairovę, kiti mokslininkai taip pat pastebi, jog kukurūzų grūdai gali būti užkrėsti plačiu rūšių spektru (Bertero et al. 2018; Janić Hajnal et al.

2023). Lenkijoje atlikti tyrimai tik patvirtina, jog vienos iš dažniausiai pasitaikančių rūšių yra šios: *F. verticillioides*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. sporotrichioides* (Czarnecka et al. 2022; Pfordt et al. 2020). Mūsų tyrime analizuoti hibridai anksčiau nebuvo tirti dėl atsparumo *U. maydis*, tačiau tyrimo rezultatai rodo, kad *Duxxbury* hibrido pasėlių burbuolės buvo net kelis kartus labiau užsikrėtusios lyginant su *Lapriora* hibrido pasėlių burbuolėmis. Kinijos mokslininkai teigia, kad kukurūzų atsparumas *U. maydis* gali būti susijęs su tam tikrais augalų medžiagų apykaitos procesais, pavyzdžiui, aminorūgščių ir reaktyvių deguonies formų apykaita (Radócz et al. 2023). Vokietijoje atliktas tyrimas parodė, kad selekcija ir genų inžinerijos naudojimas, konkrečiai genų redagavimo metodus nukreipiant į jautrumo faktorių lipoksigenazę 3 ir dirbant su hibridais turinčiais didesnę atsparumą šiam sukėlėjui, atrodo kaip perspektyvus būdas sumažinti kukurūzų užsikrėtimą ir simptomų pasireiškimą (Pathi et al. 2020). Pūslėtųjų kūlių vyravimas kukurūzų pasėliuose galėjo turėti reikšmingos įtakos *Fusarium* grybų plitimui grūduose. Amerikos mokslininkai teigia, kad užsikrėtimas pūslėtosiomis kūlėmis ir pūslėlių formavimasis pažeidžia kukurūzų grūdų lukšto vientisumą ir tai lemia greta esančių besimptomų grūdų sumažėjusį atsparumą kitiems mikroskopiniams grybams (Abbas et al. 2015).

3.3.2. DON, 3-ADON, 15-ADON, T-2, HT-2, ZEA ir AFL_{B1+B2+G1+G2} mikotoksinai kukurūzų grūduose vėlinant derliaus nuėmimą

Įvertinę A ir B tipo trichotecenų koncentracijas pastebėjome, jog 2020 metais 3-ADON ir 15-ADON atveju nustatytų koncentracijų vidurkis buvo žemiau aptikimo ribos, ta pati tendencija pastebima ir 2022 metai, tačiau 2021 metai buvo išskirtiniai 3-ADON ir 15-ADON koncentracijos buvo virš žemiausios aptikimo ribos (13 lentelė). *Duxxbury* hibrido grūduose DON, T-2 ir HT-2 2021 metais buvo atitinkamai 37, 65 ir 20 kartų didesnės nei 2020 metais ($P < 0,001$), o 2022 metais šių mikotoksinų koncentracijos buvo žemiau aptikimo ribos. *Lapriora* hibrido grūduose reikšmingai išsiskyrė tik DON koncentracija – ji 2021 metais buvo 5 kartus didesnė nei 2020 ($P < 0,05$). ZEA buvo aptinkamas kiekvienais metais, tačiau ir vėl didesnėmis koncentracijomis pasižymėjo 2021 metai. *Duxxbury* hibrido grūduose ZEA koncentracijos buvo 22 ir 7 kartus atitinkamai didesnės nei 2020 ir 2022 metais ($P < 0,01$). *Lapriora* hibrido grūduose ZEA koncentracijos buvo 4 ir 3 kartus atitinkamai didesnės nei 2020 ir 2022 metais ($P < 0,001$). Kukurūzų grūduose vertinant bendrą AFL_{B1+B2+G1+G2} kiekį buvo aptinkami tik pėdsakai arba koncentracijos žemiau aptikimo ribos.

Dėl nustatytų didelių koncentracijų 2021 metais, pastebimi ir skirtumai tarp hibridų. *Duxxbury* hibrido grūdai pasižymėjo kelis kartus didesnėmis DON, 3-ADON, 15-ADON, T-2, HT-2 ir ZEA koncentracijomis. DON ir 3-ADON koncentracijos buvo 6 kartus ($P < 0,05$), 15-

ADON 4 kartus ($P < 0,05$), T-2 toksino 25 kartus ($P < 0,01$), HT-2 toksino 15 kartų ($P < 0,001$), o ZEA 3 kartus ($P < 0,05$) didesnės nei *Lapriora* hibrido grūduose.

13 lentelė. Deoksinivalenolio (DON), 3-acetyl-deoksinivalenolio (3-ADON), 15-acetyl-deoksinivalenolio (15-ADON), T-2, HT-2, zearalenono (ZEA) ir aflatoksinų ($AFL_{B1+B2+G1+G2}$) koncentracijos skirtingų hibridų kukurūzų grūduose 2020–2022 metais

Table 13. Concentrations of deoxynivalenol (DON), 3-acetyl-deoxynivalenol (3-ADON), 15-acetyl-deoxynivalenol (15-ADON), T-2, HT-2, zearalenone (ZEA) and aflatoxins ($AFL_{B1+B2+G1+G2}$) in different hybrids of maize grains in 2020–2022

Metai/ Year	Hibridas / Hybrid	DON	3-ADON	15-ADON	T-2	HT-2	ZEA	AFL B1+B2+G1+G2
2020	<i>Duxxbury</i>	195 ^{ab} ± 13	< LOD	< LOD	28 ^{ab} ± 3	48 ^{ab} ± 3	20 ^{ab} ± 5	< LOD
	<i>Lapriora</i>	233 ^{ab} ± 18	< LOD	< LOD	39 ^{aA} ± 8	62 ^{aA} ± 12	37 ^{ab} ± 3	< LOD
2021	<i>Duxxbury</i>	7118 ^{aA} ± 2158	131 ^a ± 50	415 ^a ± 148	1824 ^{aA} ± 561	971 ^{aA} ± 137	435 ^{bA} ± 148	< LOD
	<i>Lapriora</i>	1220 ^{bA} ± 562	21 ^b ± 12	95 ^b ± 39	72 ^{bA} ± 49	64 ^{bA} ± 44	140 ^{aA} ± 24	< LOD
2022	<i>Duxxbury</i>	< LOD	Suma / Sum	< LOD*	< LOD	< LOD	60 ^{ab} ± 28	< LOD
	<i>Lapriora</i>	< LOD	Suma / Sum	< LOD	< LOD	< LOD	47 ^{ab} ± 16	< LOD

*Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo mikotoksino koncentracijų statistiškai reikšmingus skirtumus tarp hibridų tais pačiais tyrimo metais. Skirtingos didžiosios raidės rodo mikotoksinų koncentracijų statistiškai reikšmingus skirtumus tarp metų to pačio hibrido grūduose. *2022 metais naudojant efektyviąją skysčių chromatografiją susietą su masių spektrometrija nustatyta bendra 3 ir 15-ADON koncentracija. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentration between hybrids within the same study year. Different uppercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentration between years within the same hybrid grains. *In 2022, the total concentration of 3 and 15-ADON was determined using high-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry.*

Kaip mikotoksinų koncentracijos pasiskirstė hibridų grūduose skirtingais derliaus nuėmimo laikais galime matyti 14 lentelėje. Visuose kukurūzų grūdų mėginiuose, kurie buvo ištirti 2020 ir 2021 metais buvo aptikta DON, T-2 ir HT-2 toksinų, o 2022 metais DON ir HT-2 toksinų pėdsakų buvo aptikta atitinkamai tik 21 proc. ir 8 proc. mėginių. Mikotoksinai 3-ADON ir 15-ADON 2020 ir 2022 metais nebuvo aptikti, tačiau 2021 metais 3-ADON buvo aptinkamas 46 proc. grūdų mėginių, o 15-ADON 75 proc. grūdų mėginių. ZEA 2020 metais buvo aptinkamas 83 proc. mėginių, 2021 metais 100 proc. mėginių, o 2022 metais 71 proc. mėginių. $AFL_{B1+B2+G1+G2}$ pėdsakai buvo aptikti tik 6 kukurūzų mėginiuose per visą tyrimo laikotarpį.

14 lentelė. Deoksinivalenolio (DON), 3-acetyl-deoksinivalenolio (3-ADON), 15-acetyl-deoksinivalenolio (15-ADON), T-2, HT-2, zearalenono (ZEA) ir aflatoksinų (AFL_{B1+B2+G1+G2}) koncentracijų kitimas skirtingų hibridų kukurūzų grūduose 2020–2022 metais vėlinant derliaus nuėmimą

Table 14. Changes in concentration of deoxynivalenol (DON), 3-acetyl-deoxynivalenol (3-ADON), 15-acetyl-deoxynivalenol (15-ADON), T-2, HT-2, zearalenone (ZEA) and aflatoxins (AFL_{B1+B2+G1+G2}) at different harvest times and different hybrids of maize grains in 2020–2022

Metai / Year	Hibridas / Hybrid	Derliaus nuėmimas / Harvest	DON	3-ADON	15-ADON	T-2	HT-2	ZEA	AFL _{B1+B2+G1+G2}
2020	Duxxbury	I	150 ^b ± 16	< LOD	< LOD	23 ^a ± 2	50 ^a ± 3	42 ± 1	< LOD
		II	202 ^{ab} ± 11	< LOD	< LOD	36 ^a ± 4	53 ^a ± 10	< LOD	< LOD
		III	233 ^a ± 22	< LOD	< LOD	24 ^a ± 5	41 ^a ± 1	< LOD	< LOD
	Lapriora	I	198 ^a ± 18	< LOD	< LOD	27 ^a ± 4	50 ^b ± 5	43 ^a ± 1	< LOD
		II	229 ^a ± 14	< LOD	< LOD	28 ^a ± 9	35 ^b ± 7	37 ^a ± 1	< LOD
		III	273 ^a ± 44	< LOD	< LOD	63 ^a ± 16	102 ^a ± 25	40 ^a ± 1	< LOD
2021	Duxxbury	I	1880 ^b ± 920	31 ^b ± 15	109 ^b ± 40	1960 ^a ± 976	884 ^b ± 209	237 ^b ± 75	< LOD
		II	4456 ^b ± 1387	40 ^b ± 20	169 ^b ± 60	2099 ^a ± 1518	831 ^b ± 299	68 ^b ± 10	< LOD
		III	15019 ^a ± 4018	322 ^a ± 83	968 ^a ± 201	1413 ^a ± 346	1197 ^a ± 215	1001 ^a ± 268	< LOD
	Lapriora	I	227 ^b ± 84	< LOD	< LOD	25 ^b ± 11	22 ^b ± 10	192 ^a ± 49	< LOD
		II	518 ^b ± 203	< LOD	35 ^b ± 16	16 ^b ± 3	17 ^b ± 4	86 ^a ± 20	< LOD
		III	3481 ^a ± 1463	64 ± 24	246 ^a ± 69	174 ^a ± 145	154 ^a ± 131	142 ^a ± 46	< LOD
2022	Duxxbury	I	346 ^a ± 86	Suma / Sum	< LOD*	< LOD	< LOD	98 ^a ± 25	< LOD
		II	192 ^a ± 48	Suma / Sum	< LOD	< LOD	< LOD	58 ^a ± 11	< LOD
		III	< LOD	Suma / Sum	< LOD	< LOD	< LOD	25 ^a ± 10	< LOD
	Lapriora	I	< LOD	Suma / Sum	< LOD	< LOD	< LOD	44 ^a ± 29	< LOD
		II	< LOD	Suma / Sum	< LOD	< LOD	< LOD	70 ^a ± 34	< LOD
		III	69 ± 41	Suma / Sum	< LOD	< LOD	< LOD	25 ^a ± 19	< LOD

*Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo mikotoksino koncentracijų statistiškai reikšmingus skirtumus tarp derliaus nuėmimo laikų tais pačiais tyrimo metais to pačio hibrido grūduose. *2022 metais naudojant efektyviąją skysčių chromatografiją susietą su masių spektrometrija nustatyta bendra 3 ir 15-ADON koncentracija. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentration between harvests within the same year and hybrid. *In 2022, the total concentration of 3 and 15-ADON was determined using high-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry.*

Vėlinant derliaus nuėmimą pastebėta, jog koncentracijos arba išlieka nepakitusios arba reikšmingai didėja. Reikšmingi mikotoksinų koncentracijų padidėjimai fiksuojami tik vėliausio derliaus nuėmimo metu. Vėlinant derliaus nuėmimą 2020 metais DON koncentracija reikšmingai didėjo *Duxxbury* hibrido grūduose ($P < 0,05$), o HT-2 koncentracija reikšmingai didėjo *Lapriora* hibrido grūduose ($P < 0,05$). 2021 tyrimo metais reikšmingi koncentracijų padidėjimai jau pastebimi abiejų hibridų grūduose vertinant DON, 3-ADON, 15-ADON ir HT-2 koncentracijas. *Duxxbury* hibrido grūduose DON koncentracija didėjo 8 kartus lyginant su I derliaus nuėmimu ($P < 0,01$) ir 3 kartus lyginant su II derliaus nuėmimu ($P < 0,05$), 3-ADON koncentracija didėjo 3 kartus ($P < 0,01$), 15-ADON 7 kartus ($P < 0,01$), o HT-2 1,4 karto ($P < 0,05$) lyginant su pirmais dviem derliaus nuėmimais. *Lapriora* hibrido grūduose DON koncentracija didėjo 9 kartus ($P < 0,05$), 15-ADON 12 kartų ($P < 0,01$), o HT-2 8 kartus lyginant su pirmais dviem derliaus

nuėmimais. III derliaus nuėmimo metu T-2 koncentracija *Lapriora* hibrido grūduose buvo didesnė nei I ir II derliaus nuėmimo metu atitinkamai 7 ir 11 kartų ($P < 0,05$). Tuo tarpu ZEA koncentracija reikšmingai padidėjo tik *Duxxbury* hibrido grūduose ir III derliaus nuėmimo metu buvo atitinkamai 4 ir 15 kartų didesnė nei I ir II derliaus nuėmimo metu ($P < 0,01$). Taip pat pastebėta, jog DON koncentracija 42 proc. mėginių, T-2 ir HT-2 bendra koncentracija 50 proc. mėginių ir ZEA koncentracija viename iš mėginių viršijo Europos Komisijos nustatytą didžiausią leistiną kiekį gyvūnų pašaruose.

Reikšmingų sąveikų įvertinus bendrą abiejų veiksnių (hibrido pasirinkimo ir derliaus nuėmimo laiko) poveikį mikotoksinių koncentracijų pokyčiams pastebėta nebuvo.

3.3.3. A ir B tipo trichotecenai pūslėtosiomis kūlėmis (*Ustilago maydis*) užsikrėtusiuose kukurūzų grūduose

Analizuojant 2021 metais surinktas ir vizualiai į 4 grupes (besimptomės, užsikrėtos *U. maydis*, užsikrėtusios *Fusarium* spp. ir užsikrėtusios abiem patogenais) suskirstytas kukurūzų burbuoles, nustatyta, kad DON, 3-ADON ir 15-ADON koncentracijos reikšmingai didesnės buvo abiem patogenais užsikrėtusiose burbuolėse (15 lentelė). DON koncentracija buvo atitinkamai 110 ir beveik 15 kartų didesnė nei *Fusarium* spp. arba *U. maydis* užsikrėtusiuose grūduose ($P < 0,001$). Tiriant 15-ADON koncentraciją, pastebėta, kad ji buvo atitinkamai 60, 67 ir 43 kartus didesnė nei besimptomiuose arba *Fusarium* spp. ar *U. maydis* užsikrėtusiuose grūduose ($P < 0,001$). Taip pat tiriant abiejais patogenais užsikrėtusias burbuoles nustatytos ir didelės 3-ADON koncentracijos, kai tuo tarpu kituose grupėse mikotoksino koncentracija buvo žemiau aptikimo ribos ($P < 0,001$). Keletas mėginių užsikrėtusių vien tik *U. maydis* turėjo 3-ADON pėdsakų iki $28 \mu\text{g kg}^{-1}$. Skirtingai nei prieš tai aptartų mikotoksinių, didesnės T-2 ir HT-2 toksinų koncentracijos buvo aptiktos vien tik *Fusarium* spp. užsikrėtusiose burbuolėse. Tačiau *U. maydis* užsikrėtusios burbuolėse vis tiek buvo aptinkama T-2 ir HT-2 pėdsakų atitinkamai iki 23 ir $24 \mu\text{g kg}^{-1}$. Be to, 50 proc. kukurūzų mėginių, paimtų iš abiejais patogenais užsikrėtusių burbulių taip pat turėjo T-2 ir HT-2 toksinų, kurių koncentracijos atitinkamai siekė iki 24 ir $57 \mu\text{g kg}^{-1}$.

15 lentelė. Deoksinivalenolio (DON), 3-acetyl-deoksinivalenolio (3-ADON), 15-acetyl-deoksinivalenolio (15-ADON), T-2, HT-2 koncentracijos kukurūzų grūduose, surinktuose iš besimptomų, užsikrėtusių vienu iš patogenų ir užsikrėtusių abejais patogenais burbuolių

Table 15. Concentrations of deoxynivalenol (DON), 3-acetyl-deoxynivalenol (3-ADON), 15-acetyl-deoxynivalenol (15-ADON), T-2, HT-2 in maize grains harvested from asymptomatic cobs and from visually infected with *U. maydis*, *Fusarium* spp., or both pathogens

Užsikrėtimas / Infection	DON	3-ADON	15-ADON	T-2	HT-2
Besimptomiai / Asymptomatic	< LOD	< LOD	49 ^b ± 6	< LOD	< LOD
<i>Ustilago maydis</i>	285 ^b ± 73	< LOD	44 ^b ± 12	< LOD	< LOD
<i>Fusarium</i> spp.	38 ^c ± 15	< LOD	64 ^b ± 9	132 ± 47	72 ^a ± 25
Abu patogenai / Both pathogens	4175 ^a ± 32	993 ± 125	2929 ^a ± 381	< LOD	31 ^b ± 9

Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo mikotoksino koncentracijų statistškai reikšmingus skirtumus tarp grupių. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentration between groups.

Apibendrinimas ir diskusija. Didesnės mikotoksinių koncentracijos buvo nustatytos tyrimo metais, kuomet kukurūzų pasėliuose buvo išplitusios pūslėtosios kūlės, o grūdai buvo stipriai užsikrėtę *Fusarium* spp. grybais. Duxxbury hibrido grūdai buvo užteršti net kelis kartus labiau nei Lapriora hibrido grūdai. Kiti mokslininkai taip pat pastebėjo, kad kukurūzų derliaus nuėmimo vėlinimas gali lemti didesnę užsikrėtimą *Fusarium* spp. grybais ir paskatinti mikotoksinių, tokių kaip AFL ir FUM produkavimą (da Costa et al. 2018; Kaaya et al. 2005). Italijoje atliktas tyrimas atskleidė meteorologinių sąlygų įtaką, kuomet dažnesni krituliai ir žemesnės temperatūros taip pat lėmė intensyvesnę užsikrėtimą *Fusarium* spp. grybais ir padidėjusias DON, AFL_{B1}, FUM_{B1} ir FUM_{B2} bei ZEA koncentracijas (Leggieri et al. 2019). Tyrimas Serbijos Respublikoje patvirtino, kai drėgnesni ir lietingesni studijų metai padidino DON ir jo derivatų koncentracijas (Kos et al. 2020). Taigi tyrimo metais prieš I derliaus nuėmimą ir visą likusį laikotarpį iki paskutinio derliaus nuėmimo vyravę vėsesni ir lietingesni orai galėjo lemti mikotoksinių koncentracijų padidėjimą jau ir taip stipriai užsikrėtusiuose grūduose. Nustatyta, kad kukurūzų grūduose, kurie buvo surinkti iš *Fusarium* spp. ir *U. maydis* užsikrėtusių burbuolių turėjo žymiai didesnes DON ir jo derivatų 3-ADON ir 15-ADON koncentracijas. Nors pačios pūslėtosios kūlės neišskiria toksinių medžiagų, tačiau Graikijos mokslininkai pastebėjo, kad ant išdžiovintų pūslėlių gali augti *Aspergillus* spp. mikroskopiniai grybai ir todėl susidaro galimybė susiformuoti AFL (Agriopoulou et al. 2020). JAV mokslininkai taip pat pastebė, jog AFL, FUM ir DON gali būti aptinkami šviežioje ir komerciškai konservuotose pūslėtosiose kūlėse (Abbas et al. 2017). Kitas Amerikoje atliktas tyrimas parodė, kad *U. maydis* užsikrėtusios kukurūzų burbuolės turėjo 45 kartus didesnes AFL ir daugiau nei 5 kartus didesnes FUM koncentracijas (Abbas et al. 2015). Tai pagrindžia ir mūsų tyrime aptiktas aukštas koncentracijas abejais patogenais užsikrėtusiose burbuolėse.

3.4. *Fusarium* spp. grybų ir mitybinės vertės rodiklių koreliaciniai ryšiai su mikotoksinais

3.4.1. Koreliaciniai ryšiai miežių grūduose

Įvertinome kaip mikotoksinų koncentracijos tyrimo metu koreliavo su *Fusarium* spp. grybų rūšimis (16 lentelė).

16 lentelė. T-2, HT2, zearalenono (ZEA), moniliformino (MON), nivalenolio (NIV) ir eniatinų (ENN) B, B1, A, A1 ir skirtingų rūšių *Fusarium* spp. grybų tarpusavio ryšiai miežių grūduose.

Table 16. T-2, HT-2, zearalenone (ZEA), moniliformin (MON), nivalenol (NIV) and enniatins (ENN) B, B1, A, A1 correlations with different species of *Fusarium* spp. fungi in barley grain.

Mikotoksinas / Mycotoxin	<i>F. culmorum</i>	<i>F. poae</i>	<i>F. sporotrichioides</i>	<i>F. tricinctum</i>	<i>F. equiseti</i>	<i>F. langsethiae</i>	<i>F. avenaceum</i>
T-2	-0,071	-0,078	-0,152	0,538***	-0,150	0,208	0,089
HT-2	-0,121	-0,142	-0,187	0,594***	-0,172	0,205	0,109
ZEA	0,266*	0,248*	0,423***	-0,221	0,241*	0,031	-0,101
MON	-0,068	-0,028	-0,087	0,523***	-0,073	0,011	0,449***
NIV	-0,094	0,148	0,015	0,106	-0,151	-0,214	0,122
Enniatin B	-0,057	0,185	-0,110	-0,087	-0,147	-0,230	0,374**
Enniatin B1	-0,003	0,186	-0,143	-0,108	-0,176	-0,210	0,412***
Enniatin A	0,000	0,103	-0,180	-0,091	-0,167	-0,220	0,394**
Enniatin A1	-0,004	0,101	-0,116	-0,079	-0,136	-0,200	0,434***

Pastaba / Note. * - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$.

Skirtingais metais ir skirtingų veislių grūduose reikšmingų korelacijų nepastebėta, tačiau matomos tam tikros tendencijos vertinant visų metų rezultatus bendrai. Pastebėtos labai stiprios teigiamos koreliacijos tarp T-2 ir *F. tricinctum* ($r = 0,538$, $P < 0,001$), tarp HT-2 ir *F. tricinctum* ($r = 0,594$, $P < 0,001$), tarp ZEA ir *F. sporotrichioides* ($r = 0,423$, $P < 0,001$), tarp MON ir *F. tricinctum* ($r = 0,523$, $P < 0,001$) bei *F. avenaceum* ($r = 0,449$, $P < 0,001$) ir tarp *F. avenaceum* ir ENN B1 ($r = 0,412$, $P < 0,001$) ir A1 ($r = 0,434$, $P < 0,001$). Silpnesnės teigiamos koreliacijos pastebimos tarp *F. avenaceum* ir ENN B ($r = 0,374$, $P < 0,01$) ir A ($r = 0,394$, $P < 0,01$). ZEA taip pat turėjo ne tokias stiprias tačiau statistiškai reikšmingas teigiamas koreliacijas su *F. culmorum* ($r = 0,266$, $P < 0,05$), *F. poae* ($r = 0,248$, $P < 0,05$) ir *F. equiseti* ($r = 0,241$, $P < 0,05$).

Kadangi DON koncentracijos buvo dažniausiai nustatytos žemiau aptikimo ribos arba šiek tiek viršijančios šią ribą, korelacijų su mitybinės vertės rodikliais ir mineralinėmis medžiagomis apskaičiuoti nepavyko, tačiau keletas korelacijų nustatyta tiriant kitus mikotoksinius (17 lentelė). T-2 silpnai neigiamai koreliavo su ŽL ($r = -0,655$, $P < 0,05$) 2020 metais *Laureate* veislės grūduose. Taip pat ir HT-2 tais pačiais metais tos pačios veislės grūduose neigiamai, tačiau stipriau koreliavo su ŽL ($r = -0,764$, $P < 0,01$), pastebima ir stipri neigiama koreliacija su ŽP ($r = -0,798$, $P < 0,01$). ZEA turėjo nestiprią neigiamą koreliaciją su Kr ($r = -0,635$, $P < 0,05$) 2022 metais *Luokė* veislės grūduose. Daugiausia neigiamų korelacijų nustatyta su AFL_{B1+B2+G1+G2}.

Nestiprios neigiamos koreliacijos nustatytos 2020 metais *Luokė* veislės grūduose su ŽB ($r = -0,627$, $P < 0,05$), *Laureate* veislės grūduose su ŽL ($r = -0,634$, $P < 0,05$), o 2021 metais *Luokė* veislės grūduose su ŽB ($r = -0,663$, $P < 0,05$) ir ŽL ($r = -0,722$, $P < 0,05$). Labai stiprios neigiamos AFL_{B1+B2+G1+G2} koreliacijos nustatytos 2020 metais *Luokė* veislės grūduose su SM ($r = -0,858$, $P < 0,001$) ir ŽR ($r = -0,851$, $P < 0,001$), 2021 metais *Laureate* veislės grūduose su Kr ($r = -0,878$, $P < 0,001$). Vertinant MON, NIV ir ENN B, B1, A ir A1 koreliacijas su mitybinės vertės rodikliais nenustatyta jokių teigiamų ar neigiamų koreliacijų.

17 lentelė. T-2, HT2, zearalenono (ZEA), aflatoksinų (AFL) ir sausų medžiagų (SM), žalių baltymų (ŽB), žalių riebalų (ŽR), žalios ląstelienos (ŽL), žalių pelenų (ŽP) ir krakmolo (Kr) tarpusavio ryšiai skirtingų veislių miežių grūduose 2020–2022 metais

Table 17. Correlations between T-2, HT-2, zearalenone (ZEA), aflatoxins (AFL) and dry matter (SM), crude protein (ŽB), crude fat (ŽR), crude fiber (ŽL), crude ash (ŽP), starch (Kr) in different barley grain varieties in 2020–2022

Metai / Year	Veislė / Variety	Mikotoksinas / Mycotoxin	SM	ŽB	ŽR	ŽL	ŽP	Kr
2020	<i>Laureate</i>	T2	0,475	0,216	-0,511	-0,655*	-0,525	0,207
		HT2	0,006	0,207	-0,507	-0,764**	-0,798**	0,525
		ZEA	-	-	-	-	-	-
		AFL	0,453	-0,627*	-0,003	0,433	0,483	-0,448
	<i>Luokė</i>	T2	0,422	0,160	0,161	0,402	-0,525	-0,419
		HT2	0,452	0,245	0,306	0,455	-0,522	-0,521
		ZEA	-	-	-	-	-	-
		AFL	-0,858***	-0,209	-0,851***	-0,634*	0,525	0,522
2021	<i>Laureate</i>	T2	-0,148	0,362	-0,071	-0,091	0,116	-0,097
		HT2	-0,095	0,501	-0,004	-0,201	0,121	-0,085
		ZEA	0,049	0,575	0,039	-0,044	-0,341	-0,024
		AFL	0,57	0,265	0,525	0,572	0,526	-0,878***
	<i>Luokė</i>	T2	,056	-0,310	0,115	0,387	0,028	0,003
		HT2	-0,264	-0,191	-0,313	0,571	-0,365	-0,066
		ZEA	0,010	-0,312	0,157	0,109	-0,113	0,327
		AFL	0,518	-0,663*	0,520	-0,722*	0,602	0,525
2022	<i>Laureate</i>	T2	-	-	-	-	-	-
		HT2	0,318	0,108	0,233	-0,433	0,570	-0,315
		ZEA	-0,203	-0,336	-0,296	0,130	-0,466	0,522
		AFL	-	-	-	-	-	-
	<i>Luokė</i>	T2	-	-	-	-	-	-
		HT2	-	-	-	-	-	-
		ZEA	0,510	0,344	-0,282	0,086	-0,313	-0,635*
		AFL	-	-	-	-	-	-

Pastaba. „-“ pažymėti langeliai, kuriuose koreliacijos apskaičiavimas buvo neįmanomas, nes mėginiuose mikotoksino kiekiai buvo per maži arba visai neaptinkami. / Note. Cells where the correlation could not be calculated because mycotoxin levels were too low or not detectable in the samples are marked “-“. * - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$.

Neigiamos mikotoksinų koreliacijos su mineralinėmis medžiagomis pastebimos tik 2020 ir 2021 metais (18 lentelė). T-2 stipriai neigiamai koreliavo su P kiekiu ($r = -0,780$, $P < 0,01$) 2020 metais *Laureate* veislės grūduose. Taip pat ir HT-2 tais pačiais metais tos pačios veislės grūduose silpniau, tačiau vis tiek neigiamai koreliavo su P kiekiu ($r = -0,587$, $P < 0,05$). Dar viena HT-2 neigiama koreliacija su pastebima ir 2021 metais *Laureate* veislės grūduose su Ca ($r = -0,793$, $P < 0,01$). ZEA neturėjo reikšmingų korelacijų su mineralinėmis medžiagomis. $AFL_{B1+B2+G1+G2}$ 2020 metais *Laureate* veislės grūduose neigiamai koreliavo su Fe ($r = -0,611$, $P < 0,05$), *Luokė* veislės grūduose neigiamai koreliavo su Ca ($r = -0,584$, $P < 0,05$), 2021 metais *Laureate* veislės grūduose stipriai neigiamai koreliavo su Zn ($r = -0,774$, $P < 0,01$), o *Luokė* veislės grūduose neigiamai koreliavo su P ($r = -0,760$, $P < 0,05$).

18 lentelė. T-2, HT2, zearalenono (ZEA), aflatoksinų ($AFL_{B1+B2+G1+G2}$) ir mineralinių medžiagų (P, Ca, Zn, Fe, Mg) tarpusavio ryšiai skirtingų veislių miežių grūduose 2020–2022 metais

Table 18. Correlations between T-2, HT-2, zearalenone (ZEA), aflatoxins ($AFL_{B1+B2+G1+G2}$) and minerals (P, Ca, Zn, Fe, Mg) in different barley grain varieties in 2020–2022

Metai/ Year	Veislė/ Variety	Mikotoksinas / Mycotoxin	P	Ca	Zn	Fe	Mg
2020	<i>Laureate</i>	T2	-0,780**	-0,009	-0,281	0,292	-0,092
		HT2	-0,587*	-0,029	-0,337	0,518	-0,219
		ZEA	-	-	-	-	-
		$AFL_{B1+B2+G1+G2}$	0,196	-0,290	0,016	-0,611*	-0,124
	<i>Luokė</i>	T2	-0,070	0,205	-0,316	-0,265	-0,021
		HT2	0,058	0,195	-0,451	-0,258	-0,022
		ZEA	-	-	-	-	-
		$AFL_{B1+B2+G1+G2}$	0,106	-0,584*	0,510	0,542	-0,375
2021	<i>Laureate</i>	T2	-0,063	-0,483	-0,185	-0,510	-0,271
		HT2	-0,228	-0,793**	-0,293	-0,461	-0,542
		ZEA	-0,144	-0,048	0,115	-0,260	-0,233
		$AFL_{B1+B2+G1+G2}$	-0,531	-0,073	-0,774**	0,052	-0,375
	<i>Luokė</i>	T2	0,141	-0,065	0,225	0,148	-0,009
		HT2	0,395	-0,173	0,631	-0,041	0,053
		ZEA	0,164	-0,153	0,305	-0,023	-0,230
		$AFL_{B1+B2+G1+G2}$	-0,760*	0,159	-0,321	0,039	0,018
2022	<i>Laureate</i>	T2	-	-	-	-	-
		HT2	-0,117	-0,399	-0,244	-0,426	-0,459
		ZEA	-0,457	0,503	0,162	0,307	0,360
		$AFL_{B1+B2+G1+G2}$	-	-	-	-	-
	<i>Luokė</i>	T2	-	-	-	-	-
		HT2	-	-	-	-	-
		ZEA	0,396	0,260	-0,025	-0,514	0,135
		$AFL_{B1+B2+G1+G2}$	-	-	-	-	-

Pastaba. – pažymėti langeliai, kuriuose koreliacijos apskaičiavimas buvo neįmanomas, nes mėginiuose mikotoksino kiekiai buvo per maži arba visai neaptinkami. / Note. Cells where the correlation could not be calculated because mycotoxin levels were too low or not detectable in the samples are marked “-“. * - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$.

Neigiamos NIV ir ENN B, B1, A ir A1 koreliacijos su mineralinėmis medžiagomis pastebimos tik 2022 metais *Laureate* veislės grūduose (19 lentelė). Ca neigiamai koreliavo su NIV ($r = -0,601$, $P < 0,05$) ir ENN A1 ($r = -0,652$, $P < 0,05$), Fe neigiamai koreliavo su NIV ($r = -0,629$, $P < 0,05$) ir ENN B1 ($r = -0,607$, $P < 0,05$), A ($r = -0,637$, $P < 0,05$), A1 ($r = -0,702$, $P < 0,05$), o Mg neigiamai koreliavo su NIV ($r = -0,580$, $P < 0,05$) ir ENN A1 ($r = -0,633$, $P < 0,05$).

19 lentelė. Nivalenolio (NIV) ir eniatinų (ENN) B, B1, A, A1 ir mineralinių medžiagų (P, Ca, Zn, Fe, Mg) tarpusavio ryšiai skirtingų veislių miežių grūduose 2022 metais

Table 19. Correlations between nivalenol (NIV), enniatins (ENN) B, B1, A, A1 and minerals (P, Ca, Zn, Fe, Mg) in different barley grain varieties in 2022

Metai / Year	Veislė / Variety	Mikotoksinas / Mycotoxin	P	Ca	Zn	Fe	Mg
2022	<i>Laureate</i>	NIV	-0,346	-0,601*	0,202	-0,629*	-0,580*
		<i>Enniatin B</i>	0,012	-0,360	-0,278	-0,476	-0,322
		<i>Enniatin B1</i>	-0,034	-0,454	-0,246	-0,607*	-0,408
		<i>Enniatin A</i>	-0,072	-0,495	-0,197	-0,637*	-0,451
		<i>Enniatin A1</i>	0,073	-0,652*	-0,223	-0,702*	-0,633*
	<i>Luokė</i>	NIV	0,087	0,126	0,349	-0,170	0,118
		<i>Enniatin B</i>	-0,216	0,079	-0,010	-0,274	-0,050
		<i>Enniatin B1</i>	-0,327	-0,086	0,052	-0,342	-0,144
		<i>Enniatin A</i>	-0,333	-0,141	0,162	-0,370	-0,199
		<i>Enniatin A1</i>	-0,099	0,118	0,208	-0,355	-0,016

Pastaba. / Note. * - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$.

Apibendrinimas ir diskusija. Nustatytas stiprus tarpusavio ryšys tarp MON, T-2 ir HT-2 ir *F. tricinctum*, tarp MON, ENN B, B1, A, A1 ir *F. avenaceum* ir tarp ZEA ir *F. sporotrichioides*, taip pat pastebimos silpnesnės teigiamos ZEA koreliacijos su *F. culmorum*, *F. poae* ir *F. equiseti*. Tokias pačias teigiamas koreliacijas tarp mikotoksinų ir *Fusarium spp.* grybų pastebi ir kiti mokslininkai. Vokietijos mokslininkai pastebi stiprią ENN koreliaciją su *F. avenaceum* ($r=0,746$, $P < 0,001$) (Hoheneder et al. 2022). Čekijos Respublikoje atlikto tyrimo metu pastebėta, jog esant didesniam užsikrėtimui *F. tricinctum*, aptinkamos didesnės T-2 ir HT-2 koncentracijos (Pernica et al. 2022). Mokslinėje literatūroje pastebima, kad MON, ir ENN taip pat dažnai produkuoja ir *F. tricinctum*, o ZEA *F. sporotrichioides*, *F. culmorum*, *F. poae* ir *F. equiseti* (Atef, Noha, and Manal 2019; Cowger et al. 2020; Nahle, El Khoury, and Atoui 2021). Vertinant kaip mikotoksinų koncentracijos koreliavo su mitybinės vertės rodikliais pastebima, kad vyravo neigiamos koreliacijos. Daugiausiai neigiamų koreliacijų su mitybinės vertės rodikliais turėjo $AFL_{B1+B2+G1+G2}$. Dažniausiai nustatytos neigiamos mikotoksinų koreliacijos su ŽL, P, Ca ir Fe kiekiu, tačiau skirtingais metais, skirtingose veislėse jos nepasikartojo. Su kitais mitybinės vertės rodikliais ir mineralinėmis medžiagomis taip pat buvo nustatytos pavienės neigiamos koreliacijos, todėl dėsningumo pastebėti nepavyko. Nors mokslinių tyrimų nėra daug, tačiau dažniausiai

aptinkamas neigiamas mikotoksinų poveikis – pastebimos T-2 neigiamos koreliacijos su ŽB, Ca, P (Wei et al. 2019). Mokslininkai tirdami kitų rūšių grūdus užfiksavo neigiamas skirtingų AFL koreliacijas su ŽL ir kitais rodikliais (Awuchi, Owuamanam, and Ogueke 2019). Lietuvoje kviečiuose tiriant ryšius tarp mikotoksinų ir mitybinės vertės rodiklių, taip pat buvo pastebėtos pavienės dėsningumo neturinčios neigiamos koreliacijos (Kochiieru et al. 2021).

3.4.2. Koreliaciniai ryšiai kukurūzų grūduose

Kukurūzų grūduose buvo aptinkamos didesnės DON, 3-ADON, 15-ADON, T-2, HT-2 ir ZEA koncentracijos, todėl įvertinome kaip šių mikotoksinų koncentracijos tyrimo metu koreliavo su *Fusarium* spp. grybų rūšimis (20 lentelė). *F. graminearum* nestipriai, tačiau reikšmingai teigiamai koreliavo su T-2 ($r = 0,290$, $P < 0,05$) ir dar stipriau su HT-2 toksinais ($r = 0,339$, $P < 0,01$). *F. culmorum* labai stipriai teigiamai koreliavo su DON ($r = 0,731$, $P < 0,001$), 3-ADON ($r = 0,809$, $P < 0,001$), 15-ADON ($r = 0,831$, $P < 0,001$) ir ZEA ($r = 0,719$, $P < 0,001$), taip pat silpniau, tačiau vis tiek stipriai koreliavo su HT-2 ($r = 0,365$, $P < 0,01$). *F. sporotrichioides* teigiamai koreliavo su visais mikotoksinais. Labai stipriai teigiamai koreliavo su DON ($r = 0,559$, $P < 0,001$) ir HT-2 ($r = 0,445$, $P < 0,001$) mikotoksinais, šiek tiek silniau su 3-ADON ($r = 0,333$, $P < 0,01$) ir 15-ADON ($r = 0,358$, $P < 0,01$) mikotoksinais, o silpniausiai, bet vis tiek reikšmingai su T-2 toksinu ($r = 0,272$, $P < 0,05$). *F. poae* neturėjo stistiškai reikšmingų koreliacijų nei su vienu mikotoksinu.

20 lentelė. Deoksinivalenolio (DON), 3-acetyl-deoksinivalenolio (3-ADON), 15-acetyl-deoksinivalenolio (15-ADON), T-2, HT-2, zearalenono (ZEA) ir skirtingų rūšių *Fusarium* spp. grybų tarpusavio ryšiai kukurūzų grūduose

Table 20. Deoxynivalenol (DON), 3-acetyl-deoxynivalenol (3-ADON), 15-acetyl-deoxynivalenol (15-ADON), T-2, HT-2 and zearalenone (ZEA) correlations with different species of *Fusarium* spp. fungi in maize grain

Mikotoksinas / Mycotoxin	<i>F.</i> <i>graminearum</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. sporotrichioides</i>	<i>F. poae</i>
DON	0,192	0,731***	0,559***	-0,063
3-ADON	0,067	0,809***	0,333**	-0,064
15-ADON	0,110	0,831***	0,358**	-0,064
T2	0,290*	0,161	0,272*	-0,031
HT2	0,339**	0,365**	0,445***	0,026
ZEA	-0,017	0,719***	0,337**	-0,100

Pastaba. / Note. * - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$.

Mikotoksinų koreliacijos su mitybinės vertės rodikliais kukurūzų grūduose pateiktos 21 lentelėje. Reikšmingos neigiamos koreliacijos pastebimos tik 2020 metais su ZEA. Jis stipriai neigiamai koreliavo su SM ($r = -0,799$, $P < 0,01$) ir silpnai, bet statistiškai reikšmingai su ŽL ($r = -0,634$, $P < 0,05$) *Duxxbury* hibrido grūduose.

21 lentelė. Deoksinivalenolio (DON), 3-acetyl-deoksinivalenolio (3-ADON), 15-acetyl-deoksinivalenolio (15-ADON), T-2, HT-2, zearalenono (ZEA) ir sausų medžiagų (SM), žalių baltymų (ŽB), žalių riebalų (ŽR), žalios ląstelienos (ŽL), žalių pelenų (ŽP), vandenyje tirpių angliavandenių (VTA), neutraliame (NDF) ir rūgštiname (ADF) tirpale tirpios ląstelienos, krakmolo (Kr) tarpusavio ryšiai skirtingų hibridų kukurūzų grūduose 2020–2022 metais

Table 21. Deoxynivalenol (DON), 3-acetyl-deoxynivalenol (3-ADON), 15-acetyl-deoxynivalenol (15-ADON), T-2, HT-2, zearalenone (ZEA) correlations with dry matter (SM), crude protein (ŽB), crude fat (ŽR), crude fiber (ŽL), crude ash (ŽP), water soluble carbohydrates (VTA), neutral (NDF) and acid (ADF) detergent fiber, starch (Kr) in different maize grain hybrids in 2020–2022

Metai	Hibridas	Mikotoksinas	SM	ŽB	ŽR	ŽL	ŽP	VTA	NDF	ADF	Kr	
2020	Duxxbury	DON	0,564	0,512	0,555	0,525	0,125	0,142	0,156	0,273	-0,217	
		3-ADON	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		15-ADON	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		T-2	-0,365	0,036	0,039	-0,164	0,393	0,304	0,463	0,320	-0,325	
		HT-2	-0,253	0,618*	0,418	-0,086	0,242	0,455	0,286	0,012	-0,410	
		ZEA	-0,799**	-0,066	-0,531	-0,634*	-0,267	0,182	-0,375	-0,384	-0,060	
		Lapriora	DON	0,381	-0,485	0,525	-0,008	-0,220	-0,454	0,369	0,362	0,424
	3-ADON		-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	15-ADON		-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	T-2		0,508	0,024	0,532	0,564	-0,049	0,017	0,318	0,438	-0,166	
	HT-2		0,648*	0,058	0,459	0,564	-0,271	0,078	0,398	0,397	-0,332	
	ZEA		-0,070	0,376	-0,442	0,004	-0,589*	0,625*	-0,315	-0,337	-0,777**	
	2021		Duxxbury	DON	0,564	0,145	-0,107	-0,416	-0,442	-0,499	0,051	0,010
		3-ADON		0,564	0,285	0,016	-0,429	-0,338	-0,459	-0,239	-0,134	-0,228
15-ADON		0,568		0,281	-0,035	-0,420	-0,355	-0,436	-0,180	-0,135	-0,261	
T-2		-0,040		0,490	0,526	-0,228	0,168	0,153	-0,084	0,192	0,228	
HT-2		0,184		0,185	0,607*	-0,203	-0,016	-0,334	-0,178	-0,012	0,240	
ZEA		0,415		0,232	-0,036	-0,179	-0,215	-0,489	-0,381	-0,337	0,309	
Lapriora		DON		0,548	0,502	-0,115	0,288	0,541	0,539	0,592	0,578	-0,174
		3-ADON	0,578	0,264	-0,151	0,555	0,550	0,429	0,526	0,580	-0,245	
		15-ADON	0,564	0,381	-0,031	0,568	0,564	0,504	0,570	0,564	-0,202	
		T-2	0,328	0,525	-0,097	-0,061	0,525	0,370	0,546	0,531	-0,082	
		HT-2	0,331	0,555	-0,091	-0,067	0,515	0,366	0,534	0,524	-0,074	
		ZEA	-0,318	-0,436	-0,518	0,259	-0,052	-0,095	-0,005	0,021	-0,262	

2022	Duxxbury	DON	0,246	0,084	-0,294	-0,240	-0,018	0,383	0,300	-0,389	-0,125
		3-ADON	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		15-ADON	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		T-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		HT-2	-0,381	-0,570	0,080	0,016	0,556	0,437	-0,261	-0,192	0,202
		ZEA	0,179	0,119	-0,041	-0,166	0,132	0,352	0,227	-0,312	-0,269
	Lapriora	DON	0,328	0,175	0,039	0,020	-0,422	-0,468	0,437	0,570	0,333
		3-ADON	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		15-ADON	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		T-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		HT-2	0,336	0,077	0,212	-0,189	0,041	-0,202	0,349	0,479	0,331
		ZEA	-0,340	-0,206	-0,503	0,118	0,572	-0,199	0,092	-0,167	-0,023

Pastaba. – pažymėti langeliai, kuriuose koreliacijos apskaičiavimas buvo neįmanomas, nes mėginiuose mikotoksino kiekiai buvo per maži arba visai neaptinkami. / Note. Cells where the correlation could not be calculated because mycotoxin levels were too low or not detectable in the samples are marked “-“. * - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$.

Taip pat stipriai neigiamai koreliavo su Kr ($r = -0,777$, $P < 0,01$) ir silpnai, bet reikšmingai su ŽP ($r = -0,589$, $P < 0,05$) *Lapriora* hibrido grūduose. Tačiau buvo pastebima ir teigiamų koreliacijų. 2020 metų *Lapriora* hibrido grūdų mėginiuose HT-2 nestipriai teigiamai koreliavo su ŽB ($r = 0,618$, $P < 0,05$) ir su SM ($r = 0,648$, $P < 0,05$), o 2021m. *Duxxbury* hibrido grūduose su ŽR ($r = 0,625$, $P < 0,05$). 2022 tyrimo metais koreliacinių ryšių nepastebėjome.

Mikotoksinų koreliacijos su mineralinėmis medžiagomis kukurūzų grūduose pateiktos 22 lentelėje. Tyrimo metu pastebėtos vos kelios neigiamos koreliacijos su mineralinėmis medžiagomis. *Lapriora* hibrido grūduose T-2 neigiamai koreliavo su Fe ($r = -0,581$, $P < 0,05$) 2020 metais, o 15-ADON neigiamai koreliavo su Ca ($r = 0,632$, $P < 0,05$) 2021 metais. 2022 tyrimo metais reikšmingų koreliacijų nepastebėjome.

22 lentelė. Deoksinivalenolio (DON), 3-acetyl-deoksinivalenolio (3-ADON), 15-acetyl-deoksinivalenolio (15-ADON), T-2, HT-2, zearalenono (ZEA) ir mineralinių medžiagų (P, Ca, Zn, Fe, Mg) tarpusavio ryšiai skirtingų hibridų kukurūzų grūduose 2020–2022 metais

Table 22. Deoxynivalenol (DON), 3-acetyl-deoxynivalenol (3-ADON), 15-acetyl-deoxynivalenol (15-ADON), T-2, HT-2, zearalenone (ZEA) correlations with minerals (P, Ca, Zn, Fe, Mg) in different maize grain hybrids in 2020–2022

Metai / Year	Hibridas / Hybrid	Mikotoksinas / Mycotoxin	P	Ca	Zn	Fe	Mg
2020	<i>Duxxbury</i>	DON	0,362	-0,305	-0,204	-0,307	-0,438
		3-ADON	-	-	-	-	-
		15-ADON	-	-	-	-	-
		T-2	0,158	-0,015	-0,127	-0,436	0,104
		HT-2	0,011	0,528	-0,138	-0,561	0,451
		ZEA	-0,286	0,409	0,462	0,344	0,431
	<i>Lapriora</i>	DON	-0,421	-0,255	-0,379	-0,413	-0,355
		3-ADON	-	-	-	-	-
		15-ADON	-	-	-	-	-
		T-2	0,182	-0,204	-0,226	-0,581*	-0,139
		HT-2	0,110	-0,005	-0,238	-0,440	0,001
		ZEA	0,513	0,564	0,409	0,109	0,560
2021	<i>Duxxbury</i>	DON	0,326	-0,124	-0,446	0,469	-0,089
		3-ADON	0,442	-0,009	-0,415	0,405	0,048
		15-ADON	0,415	-0,047	-0,414	0,392	0,014
		T-2	-0,161	-0,221	0,138	-0,403	0,020
		HT-2	0,152	0,019	-0,238	0,046	0,135
		ZEA	0,407	0,349	-0,385	0,437	0,238
	<i>Lapriora</i>	DON	0,062	-0,534	-0,283	0,564	-0,243
		3-ADON	-0,121	-0,539	-0,249	0,560	-0,261
		15-ADON	-0,038	-0,632*	-0,349	0,568	-0,183
		T-2	0,558	-0,112	-0,024	0,555	0,394
		HT-2	0,559	-0,128	-0,023	0,530	0,381
		ZEA	-0,476	0,056	0,479	-0,104	-0,332

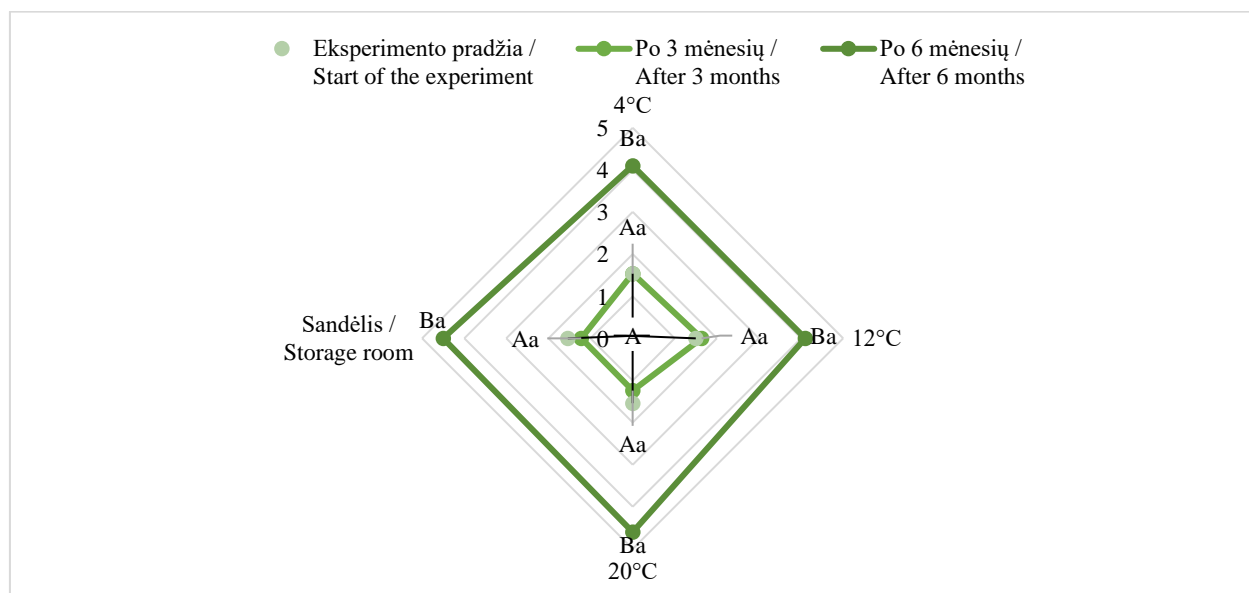
Metai / Year	Hibridas / Hybrid	Mikotoksinas / Mycotoxin	P	Ca	Zn	Fe	Mg
2022	Duxxbury	DON	-0,207	-0,048	0,057	0,214	-0,483
		3-ADON	-	-	-	-	-
		15-ADON	-	-	-	-	-
		T-2	-	-	-	-	-
		HT-2	0,072	-0,283	0,126	-0,064	-0,282
		ZEA	-0,051	-0,155	-0,098	0,162	-0,355
	Lapriora	DON	0,098	-0,302	-0,203	0,040	-0,057
		3-ADON	-	-	-	-	-
		15-ADON	-	-	-	-	-
		T-2	-	-	-	-	-
		HT-2	-0,037	-0,435	-0,376	-0,037	-0,028
		ZEA	0,188	0,191	-0,031	-0,294	-0,125

Pastaba. – pažymėti langeliai, kuriuose koreliacijos apskaičiavimas buvo neįmanomas, nes mėginiuose mikotoksino kiekiai buvo per maži arba visai neaptinkami. / Note. Cells where the correlation could not be calculated because mycotoxin levels were too low or not detectable in the samples are marked “-“. * - $P < 0,05$.

Apibendrinimas ir diskusija. Visų analizuotų mikotoksinių koncentracijos teigiamai koreliavo su *F. sporotrichioides*. *F. culmorum* taip pat teigiamai koreliavo su visų mikotoksinių koncentracijomis, išskyrus T-2 toksino, *F. gramineurum* teigiamos koreliacijos pastebėtos tik su T-2 ir HT-2 toksiniais. Kiti tyrėjai taip pat pastebi reikšmingas teigiamas koreliacijas tarp *F. culmorum*, *F. graminearum* ir A bei B tipo trichotecenų, taip pat pastebimas ryšys ir tarp didėjančių *F. sporotrichioides* užsikrėtimų bei padidėjusių T-2 ir HT-2 koncentracijų (Meyer et al. 2022; Somma et al. 2022; Vandicke et al. 2019). Vertinant koreliacijas su mitybinės vertės rodikliais ir mineralinėmis medžiagomis, net ir esant dideliame užterštumui mikotoksinais pastebimos tik pavienės teigiamos ir neigiamos koreliacijos, kurios nesikartojo ir neturėjo dėsningumo. Brazilijoje pastebima, kad kartu su didesnėmis AFL_{B1} , FUM_{B1} ir FUM_{B2} bei ZEA koncentracijomis kukurūzų grūduose pastebimi didesni $\check{Z}B$ svyravimai (Tyska et al. 2023). Kito tyrimo metu pastebėtos neigiamos $AFL_{B1+B2+G1+G2}$ ir FUM_{B1+B2} koreliacijos su $\check{Z}L$ ir drėgniu, tačiau teigiama FUM koreliacija su $\check{Z}B$ (Batista et al. 2023). Šių tyrimų metu nustatytos tik šios pavienės koreliacijos, o su kitais mitybinės vertės rodikliais mikotoksinais reikšmingai nekoreliavo. Tai patvirtina mūsų tyrimo metu gautus rezultatus. Nors reikšminga mikotoksinių įtaka kukurūzų grūdų kokybinei sudėčiai tyrimo metu nebuvo įrodyta, tačiau didesnės DON, ZEA, $AFL_{B1+B2+G1+G2}$, NIV ir FUM_{B1+B2} koncentracijos aptinkamos prastesnės išvaizdos ir organoleptinių savybių grūduose – grūdai būna pajuodavę, turi juodų dėmių, bei duobučių, ant grūdų aptinkamas pelėsis (Aoun et al. 2020; Lauren, Jensen, and Smith 2006).

3.5. Sandėliavimo sąlygų įtaka mikotoksinų koncentracijų kitimui ir mitybinės vertės rodikliams kukurūzų grūduose

AFL_{B1+B2+G1+G2} koncentracijų pokyčiai parodyti 14 paveiksle. Įvertinus kaip kinta bendra AFL sumos koncentracija sandėliuojant skirtingomis sąlygomis, nustatyta, kad po 3 mėnesių sandėliavimo koncentracija išliko beveik tokia pati ir reikšmingai nesiskyrė vertinant koncentracijas tarp skirtingų sandėliavimo sąlygų. Praėjus 6 mėnesiams, koncentracija padidėjo maždaug tris kartus visose sandėliavimo vietose ($P < 0,001$). Laikant 4 °C ir 12 °C temperatūroje bendra koncentracija didėjo nuo 1,5 iki 4,1 $\mu\text{g kg}^{-1}$, laikant 20°C temperatūroje didėjo nuo 1,5 iki 4,7 $\mu\text{g kg}^{-1}$, o sandėlyje, kur temperatūra buvo kintanti nuo 1,5 iki 4,5 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Koncentracija skirtingomis sandėliavimo sąlygomis didėjo labai panašiai, todėl skirtumų tarp skirtingų sandėliavimo vietų nepastebėta.



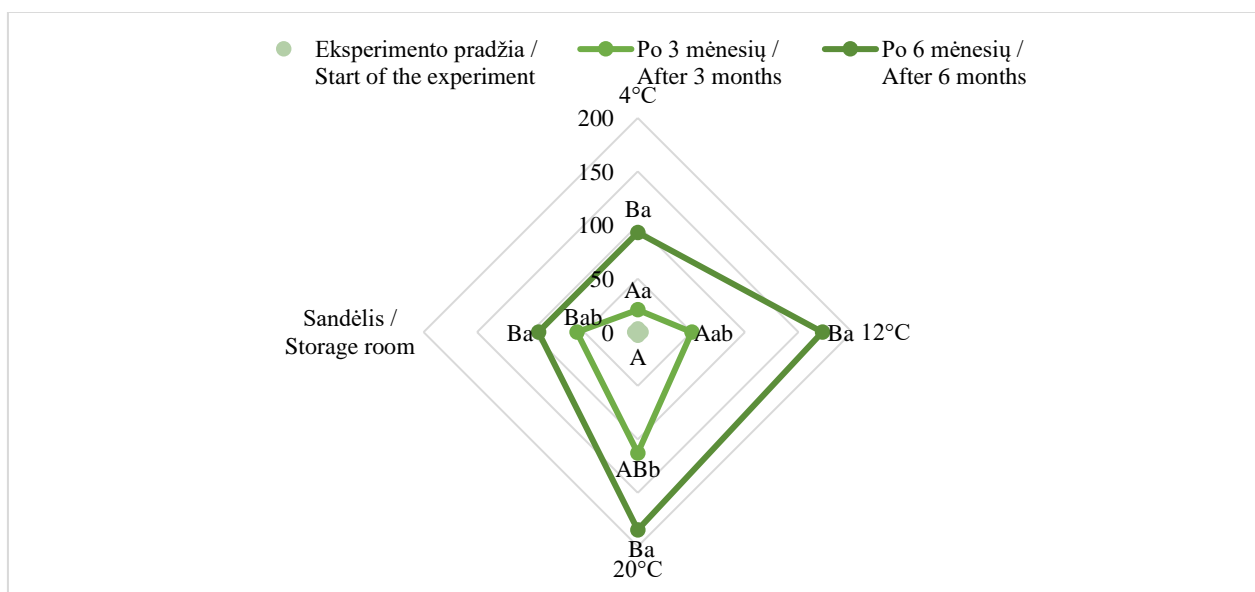
Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo statistiškai reikšmingus mikotoksino koncentracijų skirtumus tarp skirtingų laikymo sąlygų tame pačiame laikotarpyje. Skirtingos didžiosios raidės rodo statistiškai reikšmingus mikotoksino koncentracijų skirtumus tarp laikotarpių toje pačioje laikymo vietoje. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentrations between different storage conditions within the same time period. Different uppercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentrations between time periods within the same storage location.

14 pav. AFL sumos koncentracijų pokyčiai kukurūzų grūduose sandėliuojant skirtingomis sąlygomis

Fig. 14. Total AFL concentration in maize grain under different storage conditions

CIT koncentracijų pokyčiai parodyti 15 paveiksle. Ekperimento pradžioje kukurūzų grūdai nebuvo užsikrėtę CIT. Po 3 mėnesių sandėliavimo buvo pastebėta, jog sandėlyje, kuriame aplinkos temperatūra buvo kintanti, CIT koncentracija padidėjo iki $56,9 \pm 21,4 \mu\text{g kg}^{-1}$ ($P < 0,01$), o sandėliuojant 4 °C, 12 °C ir 20 °C temperatūroje koncentracija buvo didesnė nei eksperimento

pradžioje, tačiau reikšmingai nuo jos nesiskyrė. Po 6 mėnesių sandėliavimo koncentracija 4 °C, 12 °C ir 20 °C reikšmingai didėjo ne tik lyginant su koncentracija eksperimento pradžioje, bet ir lyginant su koncentracija po 3 mėnesių sandėliavimo. Koncentracija 4°C temperatūroje padidėjo iki $93,1 \pm 17,6 \mu\text{g kg}^{-1}$ ($P < 0,001$), 12°C temperatūroje iki $172,3 \pm 41,7 \mu\text{g kg}^{-1}$ ($P < 0,001$), 20 °C iki $184,5 \pm 49,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ ($P < 0,01$). Lyginant skirtingas sandėliavimo vietas tarpusavyje, pastebėta, jog sandėliuojant 20°C temperatūroje koncentracijos po 3 mėnesių buvo 5 kartus didesnės nei sandėliuojant 4°C temperatūroje ($P < 0,01$). Daugiau reikšmingų koncentracijų skirtumų tarp skirtingų sandėliavimo vietų po 3 ir po 6 mėnesių mėginių laikymo nepastebėta.



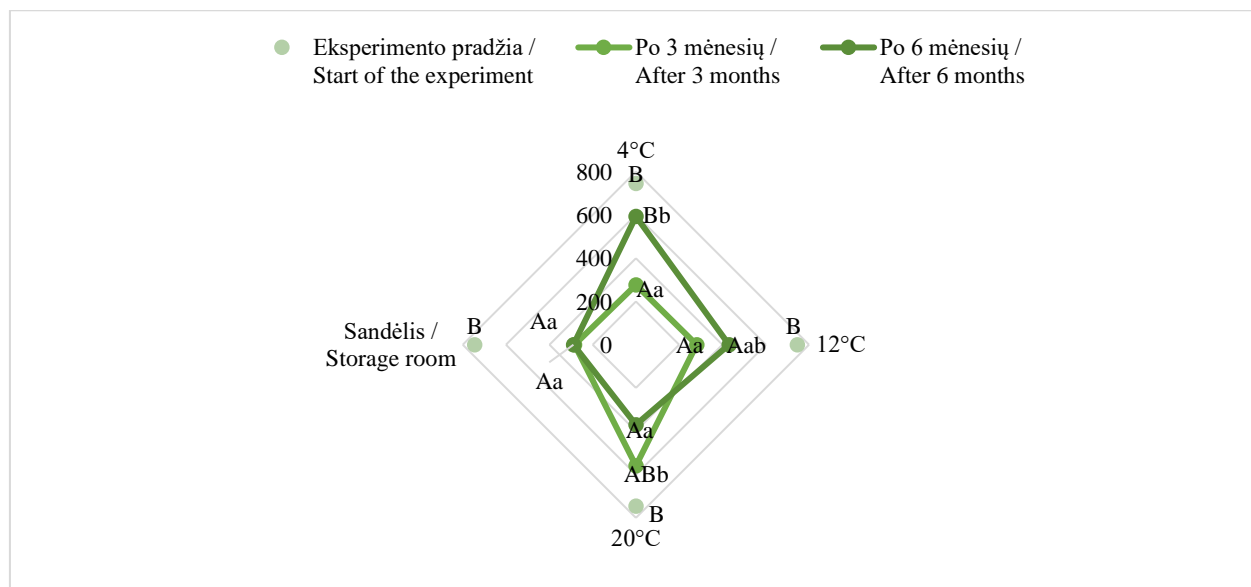
Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo statistiškai reikšmingus mikotoksino koncentracijų skirtumus tarp skirtingų laikymo sąlygų tame pačiame laikotarpyje. Skirtingos didžiosios raidės rodo statistiškai reikšmingus mikotoksino koncentracijų skirtumus tarp laikotarpių toje pačioje laikymo vietoje. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentrations between different storage conditions within the same time period. Different uppercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentrations between time periods within the same storage location.

15 pav. CIT koncentracijų pokyčiai kukurūzų grūduose sandėliuojant skirtingomis sąlygomis

Fig. 15. CIT concentration in maize grain under different storage conditions

DON koncentracijų pokyčiai parodyti 16 paveiksle. Nustatyta, kad po 3 mėnesių sandėliavimo 4°C temperatūroje DON koncentracija sumažėjo 2,7 karto – nuo $746 \pm 112 \mu\text{g kg}^{-1}$ iki $276 \pm 20 \mu\text{g kg}^{-1}$ ($P < 0,01$), tačiau po 6 mėnesių laikymo koncentracija vėl padidėjo iki $593 \pm 110 \mu\text{g kg}^{-1}$ ($P < 0,01$). Sandėliuojant 12°C temperatūroje ir sandėlyje su kintančia aplinkos temperatūra po 3 mėnesių koncentracija taip pat atitinkamai sumažėjo iki $280 \pm 23 \mu\text{g kg}^{-1}$ ir $283 \pm 28 \mu\text{g kg}^{-1}$ ($P < 0,01$), tačiau šį kartą po 6 mėnesių koncentracijos išliko panašios ir nedidėjo. Sandėliuojant 20 °C temperatūroje DON koncentracija reikšmingai sumažėjo iki $288 \pm 15 \mu\text{g kg}^{-1}$ tik po 6 mėnesių laikymo ($P < 0,05$).

Pastebėta, jog po 3 mėnesių kukurūzų grūdų laikymo 20 °C temperatūroje DON koncentracija vis dar buvo 2 kartus didesnė, palyginti su kitomis laikymo sąlygomis ($P < 0,01$). Tačiau po 6 mėnesių DON koncentracija 4 °C temperatūroje buvo 1,6 ir 2 kartus atitinkamai didesnė nei sandėliuojant 20 °C temperatūroje ir sandėlyje su kintančia aplinkos temperatūra ($P < 0,01$).



Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo statistiškai reikšmingus mikotoksino koncentracijų skirtumus tarp skirtingų laikymo sąlygų tame pačiame laikotarpyje. Skirtingos didžiosios raidės rodo statistiškai reikšmingus mikotoksino koncentracijų skirtumus tarp laikotarpių toje pačioje laikymo vietoje. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentrations between different storage conditions within the same time period. Different uppercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentrations between time periods within the same storage location.

16 pav. DON koncentracijų pokyčiai kukurūzų grūduose sandėliuojant skirtingomis sąlygomis

Fig. 16. DON concentration in maize grain under different storage conditions

Ekperimento metu ZEA ir OTA koncentracijos dažnai nesiekė žemiausios aptikimo ribos (23 lentelė). Todėl sandėliavimo metu nubuvo aptinkama jokių statistiškai reikšmingų pokyčių tarp sandėliavimo laikotarpių ir sandėliavimo vietų.

Mitybinės vertės rodiklių pokyčiai kukurūzų grūduose po 3 ir 6 mėnesių sandėliavimo pateikti 24 lentelėje. Po 3 ir 6 mėnesių mėginių sandėliavimo 20°C temperatūroje pastebėti reikmingi mitybinės vertės rodiklių pokyčiai. Po 3 mėnesių SM ir Kr kiekiai padidėjo atitinkamai 2,2 ir 3,6 proc. ($P < 0,01$), o po 6 mėnesių SM ir Kr kiekiai padidėjo atitinkamai 3,9 ir 4,6 proc. ($P < 0,001$). Laikant mėginius sandėlyje su kintančia aplinkos temperatūra pastebėta, jog po 3 mėnesių SM kiekis sumažėjo 3,7 proc. ($P < 0,001$), tačiau po 6 mėnesių vėl buvo toks pat kaip ir ekperimento pradžioje. ŽB, ŽP, ŽL ir ŽR kiekis per visą ekperimentinį laikotarpį reikšmingai nekito.

23 lentelė. Zearalenono (ZEA) ir ochratoksino A (OTA) koncentracijų pokyčiai kukurūzų grūduose sandėliuojant skirtingomis sąlygomis

Table 23. Zearalenone (ZEA) and ochratoxin A (OTA) concentration in maize grain under different storage conditions

Mikotoksinas / Mycotoxin	Sąlygos / Conditions	Ekspimento pradžią / Start of the experiment	Po 3 mėnesių / After 3 months	Po 6 mėnesių / After 6 months
ZEA (LOD = 17.5)	4 °C	17.9 ^A	24.8 ^{aA}	< LOD
	12 °C		71.8 ^{aA}	< LOD
	20 °C		25.2 ^{aA}	< LOD
	Sandėlis		< LOD	< LOD
OTA (LOD= 1.3)	4 °C	1.4 ^A	< LOD	< LOD
	12 °C		< LOD	< LOD
	20 °C		1.5 ^A	1.6 ^A
	Sandėlis		< LOD	< LOD

Pastaba. Skirtingos mažosios raidės rodo statistiškai reikšmingus mikotoksino koncentracijų skirtumus tarp skirtingų laikymo sąlygų tame pačiame laikotarpyje. Skirtingos didžiosios raidės rodo statistiškai reikšmingus mikotoksino koncentracijų skirtumus tarp laikotarpių toje pačioje laikymo vietoje. / Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentrations between different storage conditions within the same time period. Different uppercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentrations between time periods within the same storage location.

24 lentelė. Sausų medžiagų (SM), žalių baltymų (ŽB), žalių riebalų (ŽR), žalios ląstelienos (ŽL), žalių pelenų (ŽP) ir krakmolo (Kr) pokyčiai kukurūzų grūduose po 3 ir 6 mėnesių sandėliavimo skirtingomis sąlygomis

Table 24. Dry matter (SM), crude protein (ŽB), crude fat (ŽR), crude fiber (ŽL), crude ash (ŽP) and starch (Kr) content of maize grains after 3 and 6 months of storage at different storage conditions

Sąlygos / Conditions	SM, %	ŽB	ŽP	ŽL	Kr	ŽR	
		% SM					
Ekspimento pradžioje / Start of the experiment	88.8	9.3	0.56	0.49	64.3	4.3	
Po 3 mėnesių / After 3 months	4 °C	88.3	9.2	0.50	0.32	64.9	4.4
	12 °C	87.7	9.2	0.43	0.28	64.8	4.4
	20 °C	91.1 ^{**}	8.8	0.78	0.11	67.9 ^{**}	4.5
	Sandėlyje / Storage room	85.2 ^{***}	9.2	0.26	0.81	62.6	4.2
Po 3 mėnesių / After 3 months	4 °C	89.5	9.4	0.67	0.18	64.3	4.4
	12 °C	89.2	9.3	0.42	0.20	64.2	4.4
	20 °C	92.8 ^{***}	8.8	0.78	0.11	68.9 ^{***}	4.4
	Sandėlyje / Storage room	88.2	9.3	0.42	0.46	63.1	4.3

*Pastaba. Reikšmingas skirtumas lyginant su kiekiu ekspimento pradžioje: / Note. Significant difference compared to the nutritive value at the start of the experiment: * - P < 0,05, ** - P < 0,01, *** - P < 0,001.*

Apibendrinimas ir diskusija. Kukurūzų grūdų sandėliavimas 6 mėnesius 4, 12, 20 °C ir sandėlyje, kurio temperatūra priklauso nuo lauko sąlygų, parodė, kad didžiausią įtaką AFL_{B1+B2+G1+G2} formavimuisi turėjo laikymo trukmė – po 6 mėnesių laikymo, nepriklausomai nuo laikymo sąlygų, jo vidutinė koncentracija padidėjo maždaug tris kartus. Kiti mokslininkai taip pat

*pastebi, kad sandėliavimo sezono metu bendra AFL koncentracija būna didesnė, nei derliaus nuėmimo metu, o po 6 mėnesių sandėliavimu koncentracijos reikšmingai padidėja (Ezekiel et al. 2021; Sasamalo et al. 2018). Dažnai $AFL_{B1+B2+G1+G2}$ didėjimas yra siejamas su prasta grūdų sandėliavimo praktika, kai sandėliuojami nepakankamai išdžiovinti grūdai arba sandėliuojama nehermetiškuose maišuose (Walker et al. 2018). Laikymo trukmė turėjo reikšmingos įtakos ir CIT kaupimuisi, nes prieš eksperimentą kukurūzų grūdų mėginiuose jo nebuvo aptikta, o po 6 mėnesių laikymo jo koncentracija svyravo nuo 93 iki 184 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Taip pat pastebėta, jog sandėliuojant aukštesnėje temperatūroje susidarė didesnės CIT koncentracijos. Mokslininkai taip pat pastebi, kad po 5 mėnesių sandėliavimo CIT koncentracijos būna didesnės nei derliaus nuėmimo metu (Ezekiel et al. 2021). Kitų mokslininkų tyrimai rodo, kad temperatūra nuo 25 °C iki 42 °C, bei didesnė santykinė drėgmė skatina *Aspergillus* ir *Penicillium spp.* augimą, o kartu ir CIT gamybą (Z. Li et al. 2020; Workneh, Muga, and Marenya 2019). DON koncentracijos kukurūzų grūduose ekperimento metu sumažėjo. Labai panašius rezultatus pavyko gauti ir Kinijos mokslininkams kviečių grūduose. Jie pastebėjo, jog sandėliuojant kviečius ilgiau nei 28 dienas 15 °C ir 20 °C temperatūroje, kai grūdų drėgnis nesiekia 15 proc. šio toksino rizika sumažėja (Pei et al. 2022). Kitų mokslininkų atliktas tyrimas padarė prielaidą, kad DON gali suirti arba skilti į kitus metabolitus kviečių grūdus laikant kambario temperatūroje, todėl koncentracijos gali mažėti (Zhang et al. 2016). Kukurūzų grūdų sandėliavimo sąlygos ZEA ir OTA koncentracijoms reikšmingos įtakos neturėjo. Tai patvirtina ir kitų mokslininkų tyrimai, kurių metu ZEA ir OTA koncentracijos neturėjo tendencijos keistis (Carbas et al. 2021; Worku et al. 2019). Pastebėtas reikšmingas SM ir KR kiekio didėjimas sandėliuojant kukurūzų grūdus 20 °C. Manoma, jog tai galėjo lemti mažesnė aplinkos drėgmė (37,6 proc.) ir didelė temperatūra (20 °C) – šios sąlygos palankesnės kukurūzų grūdams išdžiūti, todėl didėjo SM kiekis. Kadangi Kr yra pagrindinė kukurūzų grūdų maistinė medžiaga, o jo nustatymas glaudžiai susijęs su SM kiekiu, jo kiekis taip pat didėjo. Sandėlyje kintantis SM kiekis taip pat gali būti siejamas su aplinkoje buvusiu drėgmės kiekiu. Pirmuosius 3 mėnesius drėgmė sandėlyje siekė apie 79 proc., o likusius 3 mėnesius apie 67 proc. Slovakijoje atlikti tyrimai taip pat parodė, kad aplinkos sąlygos gali turėti įtakos grūdų drėgmės kiekiui. Sandėliuodami kukurūzų grūdus tris mėnesius -4,7°C temperatūroje, kai aplinkos drėgmė siekė 94 proc., jie pastebėjo, kad kukurūzų grūdų drėgnis padidėjo nuo 13 iki 13,9 proc. (Angelovič et al. 2018). Kito tyrimo metu pastebėta, kad drėgnis gali gerokai sumažėti kukurūzų grūdus laikant polipropileno maišeliuose 26 °C temperatūroje ir 54 proc. drėgmėje (Likhayo et al. 2018).*

IŠVADOS

1. *Laureate* miežių veislės grūdai turėjo mažesni baltymų, tačiau didesnę krakmolo kiekį nei *Luokė* miežių veislės grūdai, o vėlinant derliaus nuėmimą abiejų veislių grūduose didėjo sausų medžiagų, žalių riebalų ir žalių pelenų kiekis.
2. Miežių grūdų užsiteršimas *Fusarium* spp. grybais išryškėjo derliaus nuėmimo metu vyraujant lietingesniems orams. Užsiteršimas *Fusarium* spp. grybais siekė iki 92 proc. ir buvo aptinkamos didžiausios reglamentuojamų mikotoksinų (zearalenono, HT-2) koncentracijos.
3. Derliaus nuėmimo vėlinimas turėjo įtakos mikotoksinų koncentracijų didėjimui miežių grūdų mėginiuose: pastebimas reikšmingas aflatoksinų B1+B2+G1+G2 ir eniatinų B, B1, A, A1 koncentracijų didėjimas.
4. Vertinant kukurūzų grūdų kokybės rodiklius skirtumų tarp analizuotų hibridų nenustatyta, tačiau vėlinant derliaus nuėmimą, sumažėjo vandenyje tirpių angliavandenių kiekis.
5. Didelę įtaką kukurūzų grūdų užsiteršimui mikotoksinais turėjo kukurūzų pasėlius kolonizavę *Ustilago maydis* patogenai. Analizuoti kukurūzų grūdai buvo gausiau užteršti *Fusarium* spp. grybais ir jų produkuojamais mikotoksinais, o *Duxxbury* hibrido grūdai patogenais ir mikotoksinais buvo užteršti kelis kartus labiau nei *Lapriora* hibrido grūdai.
6. Derliaus nuėmimo vėlinimas lėmė deoksinivalenolio, 3 ir 15 acetyl-deoksinivalenolių, T-2, HT-2 toksinų bei zearalenono koncentracijų didėjimą kukurūzų grūduose.
7. Kukurūzų grūdų sandėliavimo trukmė (iki 6 mėn.) turėjo reikšmingos įtakos citrinino ir aflatoksinų B1+B2+G1+G2 koncentracijų padidėjimui.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Abbas, Hamed K., W. Thomas Shier, Javier Plasencia, Mark A. Weaver, Nacer Bellaloui, Jeremy K. Kotowicz, Alemah M. Butler, Cesare Accinelli, M. Eugenia de la Torre-Hernandez, and Robert M. Zablotowicz. 2017. 'Mycotoxin Contamination in Corn Smut (*Ustilago Maydis*) Galls in the Field and in the Commercial Food Products'. *Food Control* 71:57–63. doi: 10.1016/J.FOODCONT.2016.06.006.
2. Abbas, Hamed K., Robert M. Zablotowicz, W. Thomas Shier, Bobbie J. Johnson, Nicholas A. Phillips, Mark A. Weaver, Craig A. Abel, and H. Arnold Bruns. 2015. 'Aflatoxin and Fumonisin in Corn (*Zea Mays*) Infected by Common Smut *Ustilago Maydis*'. *Plant Disease* 99(9):1236–40. doi: 10.1094/PDIS-03-14-0234-RE/ASSET/IMAGES/LARGE/PDIS-03-14-0234-RE_T6.JPEG.
3. Abd-Elsalam, Kamel A., Ayat F. Hashim, Mousa A. Alghuthaymi, and Ernest Said-Galiev. 2017. 'Nanobiotechnological Strategies for Toxigenic Fungi and Mycotoxin Control'. Pp. 337–64 in *Food Preservation*. Elsevier.
4. Abebaw, Gashaw. 2021. 'Review on Structure, Functional and Nutritional Composition of Barley (*Hordeum Vulgare*)'. *Nutrition and Food Processing* 4(2):01–08. doi: 10.31579/2637-8914/046.
5. Adeyeye, Samuel. 2020. 'Aflatoxigenic Fungi and Mycotoxins in Food: A Review'. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 60(5):709–21. doi: 10.1080/10408398.2018.1548429.
6. Agriopoulou, Sofia, Eygenia Stamatelopoulou, and Theodoros Varzakas. 2020. 'Advances in Occurrence, Importance, and Mycotoxin Control Strategies: Prevention and Detoxification in Foods'. *Foods* 2020, Vol. 9, Page 137 9(2):137. doi: 10.3390/FOODS9020137.
7. Angelovič, Marek, Koloman Krištof, Ján Jobbágy, Pavol Findura, and Milan Križan. 2018. 'The Effect of Conditions and Storage Time on Course of Moisture and Temperature of Maize Grains'. *BIO Web of Conferences* 10:02001. doi: 10.1051/BIOCONF/20181002001.
8. Anggreini, Riski Ayu, and Noni Rahmadhini. 2020. 'POTENSI GIZI DAN KEAMANAN PANGAN CORN SMUT GALLS'. *Jurnal Teknologi Pangan* 14(2). doi: 10.33005/JTP.V14I2.2450.
9. Aoun, Meriem, William Stafstrom, Paige Priest, John Fuchs, Gary L. Windham, W. Paul Williams, and Rebecca J. Nelson. 2020. 'Low-Cost Grain Sorting Technologies to Reduce Mycotoxin Contamination in Maize and Groundnut'. *Food Control* 118:107363. doi: 10.1016/j.foodcont.2020.107363.

10. Atanda, S. A., P. O. Pessu, S. Agoda, I. U. Isong, O. A. Adekalu, M. A. Echendu, and T. C. Falade. 2011. 'Fungi and Mycotoxins in Stored Foods'. *African Journal of Microbiology Research* 5(25):4373–82. doi: 10.5897/AJMR11.487.
11. Atef, A. H., H. O. Noha, and M. E. Manal. 2019. 'Detection of Mycotoxigenic Fusarium Species in Poultry Rations and Their Growth Control by Zinc Nanoparticles'. *Animal Health Research Journal* 7(4):624–37.
12. Awuchi, C. G., C. I. Owuamanam, and C. Ogueke. 2019. 'Mycotoxin Levels and Impacts on Chemical and Functional Properties of Some Grains Sold in Owerri, Imo State, Nigeria'. Federal University of Technology, Owerri.
13. Aydoğdu, Mehmet, and Muharrem Gölükçü. 2017. 'Nutritional Value of Huitlacoche, Maize Mushroom Caused by Ustilago Maydis'. *Food Science and Technology* 37(4):531–35. doi: 10.1590/1678-457X.19416.
14. Badea, Ana, Champa Wijekoon, Ana Badea, and Champa Wijekoon. 2021. 'Benefits of Barley Grain in Animal and Human Diets'. *Cereal Grains - Volume 1*. doi: 10.5772/INTECHOPEN.97053.
15. Badr, A. Noah, Sh. M. Abdel-Fata, Y. H. Abu Sree, and H. A. Amra. 2016. 'Mycotoxigenic Fungi and Mycotoxins in Egyptian Barley under Climate Changes'. *Research Journal of Environmental Toxicology* 11(1):1–10. doi: 10.3923/rjet.2017.1.10.
16. Bakoye, O. N., I. B. Baoua, H. Seyni, L. Amadou, L. L. Murdock, and D. Baributsa. 2017. 'Quality of Maize for Sale in Markets in Benin and Niger'. *Journal of Stored Products Research* 71:99–105. doi: 10.1016/j.jspr.2017.02.001.
17. Baliukonienė, V., B. Bakutis, and H. Stankevičius. 2003. 'Mycological and Mycotoxicological Evaluation of Grain'. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 10(2):223–27.
18. Baliukonienė, Violeta, and Bronius Bakutis. 2002. 'KVIEČIŲ IR MIEŽIŲ MIKOTOKSIKOLOGINIS IR MIKROBIOLOGINIS ĮVERTINIMAS SANDĖLIAVIMO METU'. *VETERINARIJA IR ZOOTECHNIKA* 17(39).
19. Baliukonienė, Violeta, Bronius Bakutis, G. Januškevičienė, and R. Mišeikienė. 2011. 'Fungal Contamination and Fusarium Mycotoxins in Cereals Grown in Different Tillage Systems'. *Journal of Animal and Feed Sciences* 20:637–47.
20. Batista, Lucas Ferreira, Eduardo de Faria Viana, Emmanuel Arnhold, Marcos Barcellos Café, Carla Daniela Suguimoto Leite, and José Henrique Stringhini. 2023. 'Energy Values and Metabolizability Coefficients of Maize Kernels with Different Specific Gravities'. *Ciência Animal Brasileira* 24. doi: 10.1590/1809-6891v24e-74343e.

21. Bauer, Julia I., Madeleine Gross, Christoph Gottschalk, and Ewald Usleber. 2016. 'Investigations on the Occurrence of Mycotoxins in Beer'. *Food Control* 63:135–39. doi: 10.1016/j.foodcont.2015.11.040.
22. Bekalu, Zelalem Eshetu, Claus Krogh Madsen, Giuseppe Dionisio, Inger Bæksted Holme, Lise Nistrup Jørgensen, Inge S. Fomsgaard, and Henrik Brinch-Pedersen. 2020. 'Overexpression of Nepenthesin HvNEP-1 in Barley Endosperm Reduces Fusarium Head Blight and Mycotoxin Accumulation'. *Agronomy* 10(2):203. doi: 10.3390/agronomy10020203.
23. Běláková, Sylvie, Karolína Benešová, Josef Čáslavský, Zdeněk Svoboda, and Renata Mikulíková. 2014. 'The Occurrence of the Selected Fusarium Mycotoxins in Czech Malting Barley'. *Food Control* 37:93–98. doi: 10.1016/j.foodcont.2013.09.033.
24. Bertero, Alessia, Antonio Moretti, Leon J. Spicer, and Francesca Caloni. 2018. 'Fusarium Molds and Mycotoxins: Potential Species-Specific Effects'. *Toxins* 2018, Vol. 10, Page 244 10(6):244. doi: 10.3390/TOXINS10060244.
25. Beyer, Marco, Joseph-Alexander Verreet, and Wafik S. M. Ragab. 2005. 'Effect of Relative Humidity on Germination of Ascospores and Macroconidia of Gibberella Zeae and Deoxynivalenol Production'. *International Journal of Food Microbiology* 98(3):233–40. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.07.005.
26. Bi, Wuxia, Mengke Wang, Baisha Weng, Denghua Yan, Yuheng Yang, and Jinjie Wang. 2019. 'Effects of Drought-Flood Abrupt Alternation on the Growth of Summer Maize'. *Atmosphere* 2020, Vol. 11, Page 21 11(1):21. doi: 10.3390/ATMOS11010021.
27. Black, J. L., A. M. Tredrea, S. H. Bird, R. J. Hughes, S. G. Nielsen, J. L. Black, A. M. Tredrea, S. H. Bird, R. J. Hughes, and S. G. Nielsen. 2022. 'Effects of Germination on the Energy Value of Cereal Grains for Livestock'. *Animal Production Science* 63(3):256–68. doi: 10.1071/AN22183.
28. Bojana, R., H. E. Janić, R. Radmila, and K. Jovana. 2022. 'Moniliformin in Maize: Is There a Non-Contaminated Sample?' *Arhiv Za Higijenu Rada i Toksikologiju* 73(4):A34.
29. Bundessortenamt. 2022. *Beschreibende Sortenliste. Getreide, Mais, Ölfruchte, Leguminosen, Hackfruchte (Ausser Kartoffeln)*. Hannover, Germany: Bundessortenamt .
30. Butkute, Bronislava, Nijole Lemežiene, Jurgita Cesevičiene, Žilvinas Liatukas, and Giedre Dabkevičiene. 2013. 'Angliavandeniui{ogonek} Ir Lignino Pasiskirstymas Energinio Augalo Rykštėtosios Soros (*Panicum Virgatum* L.) Biomaseje'. *Zemdirbyste* 100(3):251–60. doi: 10.13080/Z-A.2013.100.032.

31. Calado, Thalita, Armando Venâncio, and Luís Abrunhosa. 2014. 'Irradiation for Mold and Mycotoxin Control: A Review'. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 13(5):1049–61. doi: 10.1111/1541-4337.12095.
32. Carbas, Bruna, Daniela Simões, Andreia Soares, Andreia Freitas, Bruno Ferreira, Alexandre R. F. Carvalho, Ana Sanches Silva, Tiago Pinto, Eugénio Diogo, Eugénia Andrade, and Carla Brites. 2021. 'Occurrence of Fusarium Spp. in Maize Grain Harvested in Portugal and Accumulation of Related Mycotoxins during Storage'. *Foods 2021, Vol. 10, Page 375* 10(2):375. doi: 10.3390/FOODS10020375.
33. da Costa, Rodrigo Vêras, Valéria A. V. Queiroz, Luciano V. Cota, Dagma D. da Silva, Fabrício E. Lanza, Rodrigo E. M. de Almeida, Alan A. Pereira, Rosiana Rodrigues Alves, and Leonardo J. M. Campos. 2018. 'Delaying Harvest for Naturally Drying Maize Grain Increases the Risk of Kernel Rot and Fumonisin Contamination'. *Tropical Plant Pathology* 43(5):452–59. doi: 10.1007/S40858-018-0234-0/FIGURES/2.
34. Cowger, Christina, Todd J. Ward, Kathryn Nilsson, Consuelo Arellano, Susan P. McCormick, and Mark Busman. 2020. 'Regional and Field-Specific Differences in Fusarium Species and Mycotoxins Associated with Blighted North Carolina Wheat'. *International Journal of Food Microbiology* 323:108594. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108594.
35. Czarnecka, Diana, Anna Czubacka, Monika Agacka-Mołdoch, Anna Trojak-Goluch, and Jerzy Księżak. 2022. 'The Occurrence of Fungal Diseases in Maize in Organic Farming Versus an Integrated Management System'. *Agronomy 2022, Vol. 12, Page 558* 12(3):558. doi: 10.3390/AGRONOMY12030558.
36. Deme, Girma Daba, Belete Tessema, and Meroda Tesfaye Gari. 2019. 'Evaluation of Malting Potential of Different Barley Varieties'. *Journal of Water Pollution & Purification Research* 6(3):24–34.
37. Edwards, Simon G., and Philip Jennings. 2018. 'Impact of Agronomic Factors on Fusarium Mycotoxins in Harvested Wheat'. *Food Additives & Contaminants: Part A* 35(12):2443–54. doi: 10.1080/19440049.2018.1543954.
38. EFSA. 2012a. 'Scientific Opinion on the Risks for Public and Animal Health Related to the Presence of Citrinin in Food and Feed'. *EFSA Journal* 10(3). doi: 10.2903/j.efsa.2012.2605.
39. EFSA. 2012b. 'Scientific Opinion on the Risks for Public and Animal Health Related to the Presence of Citrinin in Food and Feed'. *EFSA Journal* 10(3). doi: 10.2903/j.efsa.2012.2605.

40. EFSA. 2013. 'Deoxynivalenol in Food and Feed: Occurrence and Exposure'. *EFSA Journal* 11(10):3379. doi: 10.2903/J.EFSA.2013.3379.
41. EFSA. 2014. 'Scientific Opinion on the Risks for Human and Animal Health Related to the Presence of Modified Forms of Certain Mycotoxins in Food and Feed'. *EFSA Journal* 12(12). doi: 10.2903/j.efsa.2014.3916.
42. EFSA, Ana Afonso, Raquel Garcia Matas, Angelo Maggiore, Caroline Merten, Agnes Rortais, Taya Huang, and Tobin Robinson. 2019. 'EFSA's Activities on Emerging Risks in 2017'. *EFSA Supporting Publications* 16(1). doi: 10.2903/sp.efsa.2019.EN-1522.
43. EFSA, Davide Arcella, Petra Gergelova, Matteo Lorenzo Innocenti, and Hans Steinkellner. 2017. 'Human and Animal Dietary Exposure to T-2 and HT-2 Toxin'. *EFSA Journal* 15(8):e04972. doi: 10.2903/J.EFSA.2017.4972.
44. Ekwomadu, Theodora I., Stephen A. Akinola, and Mulunda Mwanza. 2021. 'Fusarium Mycotoxins, Their Metabolites (Free, Emerging, and Masked), Food Safety Concerns, and Health Impacts'. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2021, Vol. 18, Page 11741 18(22):11741. doi: 10.3390/IJERPH182211741.
45. EPPO. 2021. 'PP 1/019 (5) Seed-borne Cereal Fungi'. *EPPO Bulletin* 51(1):83–87. doi: 10.1111/epp.12709.
46. Erenstein, Olaf, Moti Jaleta, Kai Sonder, Khondoker Mottaleb, and B. M. Prasanna. 2022. 'Global Maize Production, Consumption and Trade: Trends and R&D Implications'. *Food Security* 2022 14:5 14(5):1295–1319. doi: 10.1007/S12571-022-01288-7.
47. Eskola, Mari, Gregor Kos, Christopher T. Elliott, Jana Hajšlová, Sultan Mayar, and Rudolf Krška. 2020. 'Worldwide Contamination of Food-Crops with Mycotoxins: Validity of the Widely Cited "FAO Estimate" of 25'. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 60(16):2773–89. doi: 10.1080/10408398.2019.1658570.
48. European Commission. 2006. 'COMMISSION RECOMMENDATION of 17 August 2006 on the Presence of Deoxynivalenol, Zearalenone, Ochratoxin A, T-2 and HT-2 and Fumonisin in Products Intended for Animal Feeding (Text with EEA Relevance)'. *Official Journal of the European Union* L 229:7–9.
49. European Commission. 2009. 'Commission Regulation (EC) No 152/2009 of 27 January 2009 Laying down the Methods of Sampling and Analysis for the Official Control of Feed (Text with EEA Relevance)'. *Official Journal of the European Union* L 54:1–130.
50. European Commission. 2013. '2013/165/EU: Commission Recommendation of 27 March 2013 on the Presence of T-2 and HT-2 Toxin in Cereals and Cereal Products.' *Official Journal of the European Union* L 91:12–15.

51. European Commission. 2023. 'Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on Maximum Levels for Certain Contaminants in Food and Repealing Regulation (EC) No 1881/2006 (Text with EEA Relevance)'. *Official Journal of the European Union* L 119:103–57.
52. European Parliament. 2002. 'Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council of 7 May 2002 on Undesirable Substances in Animal Feed - Council Statement'. *Official Journal of the European Communities* L 140:10–22.
53. Ezekiel, Chibundu N., Kolawole I. Ayeni, Muiz O. Akinyemi, Michael Sulyok, Oluwawapelumi A. Oyedele, Daniel A. Babalola, Isaac M. Ogara, and Rudolf Krska. 2021. 'Dietary Risk Assessment and Consumer Awareness of Mycotoxins among Household Consumers of Cereals, Nuts and Legumes in North-Central Nigeria'. *Toxins* 13(9):635. doi: 10.3390/TOXINS13090635/S1.
54. Faithfull, N. T. 2002. *Methods in Agricultural Chemical Analysis: A Practical Handbook*. Wallingford, Jungtiné Karalysté.
55. FAO. 2020. 'Climate Change: Unpacking the Burden on Food Safety'. *Climate Change: Unpacking the Burden on Food Safety* 79. doi: 10.4060/CA8185EN.
56. FAOSTAT. 2023. 'Food and Agriculture Organization of the United Nations'. Retrieved 4 September 2023 (<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>).
57. Faraji, Hamed, Farideh Tabatabaee Yazdi, and Nematollah Razmi. 2022. 'The Influence of Ultraviolet Radiation on Aflatoxin Producing *Aspergillus* Species' Isolated from Iranian Rice'. *Toxicology Reports* 9:1528–36. doi: 10.1016/j.toxrep.2022.07.007.
58. Faustino, Jacqueline Ferreira, Alfredo Ribeiro-Silva, Rodrigo Faeda Dalto, Marcelo Martins de Souza, João Marcello Fortes Furtado, Gutemberg de Melo Rocha, Monica Alves, and Eduardo Melani Rocha. 2016. 'Vitamin A and the Eye: An Old Tale for Modern Times'. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia* 79(1). doi: 10.5935/0004-2749.20160018.
59. Firáková, S., B. Proksa, and M. Sturdíková. 2007. 'Biosynthesis and Biological Activity of Enniatins'. *Pharmazie* 62(8):563–68.
60. Fremy, J. M., I. Alassane-Kpembé, I. P. Oswald, B. Cottrill, and H. P. Van Egmond. 2019. 'A Review on Combined Effects of Moniliformin and Co-Occurring Fusarium Toxins in Farm Animals'. *World Mycotoxin Journal* 12(3):281–91. doi: 10.3920/WMJ2018.2405.
61. Frommer, Dóra, Szilvia Veres, and László Radócz. 2018. 'Susceptibility of Stem Infected Sweet Corn Hybrids to Common Smut Disease'. *Acta Agraria Debreceniensis* (74):55–57. doi: 10.34101/ACTAAGRAR/74/1664.
62. Garcia-Cela, E., E. Kiaitsi, M. Sulyok, R. Krska, A. Medina, I. Petit Damico, and N. Magan. 2019. 'Influence of Storage Environment on Maize Grain: CO₂ Production, Dry Matter

- Losses and Aflatoxins Contamination’. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment* 36(1):175–85. doi: 10.1080/19440049.2018.1556403/SUPPL_FILE/TFAC_A_1556403_SM4653.DOCX.
63. Gautier, Charlotte, Laetitia Pinson-Gadais, and Florence Richard-Forget. 2020. ‘*Fusarium* Mycotoxins Enniatins: An Updated Review of Their Occurrence, the Producing *Fusarium* Species, and the Abiotic Determinants of Their Accumulation in Crop Harvests’. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 68(17):4788–98. doi: 10.1021/acs.jafc.0c00411.
 64. Geng, La, Mengdi Li, Guoping Zhang, and Lingzhen Ye. 2022. ‘Barley: A Potential Cereal for Producing Healthy and Functional Foods’. *Food Quality and Safety* 6:1–13. doi: 10.1093/FQSAFE/FYAC012.
 65. Guimarães, Amanda Gonçalves, Gessi Ceccon, Denise Prevedel Capristo, Odair Honorato DE OLIVEIRA, Marciana Retore, and Adriano Dos Santos. 2023. ‘Yield Potential and Selection of Off-Season Maize for Silage and Grain Using GT Biplot under Limited Water and Frost’. *Bioscience Journal* 39:e39032–e39032. doi: 10.14393/BJ-V39N0A2023-65597.
 66. Hakala, Kaija, Asko O. Hannukkala, Erja Huusela-Veistola, Marja Jalli, and Pirjo Peltonen-Sainio. 2011. ‘Pests and Diseases in a Changing Climate a Major Challenge for Finnish Crop Production’. *Agricultural and Food Science* 20(1):3–14. doi: 10.2137/145960611795163042.
 67. Hanvi, Dèdè M., P. Lawson-Evi, M. De Boevre, C. E. Goto, S. De Saeger, and K. Eklugadegbeku. 2019. ‘Natural Occurrence of Mycotoxins in Maize and Sorghum in Togo’. *Mycotoxin Research* 35(4):321–27. doi: 10.1007/s12550-019-00351-1.
 68. Hasan, W., R. Nigam, J. Singh, and R. Singh. 2018. *Recent Trends in Integrated Pest and Disease Management*. Zittau, Germany: Weser Books.
 69. He, Yi, and Russell J. Cox. 2016. ‘The Molecular Steps of Citrinin Biosynthesis in Fungi’. *Chemical Science* 7(3):2119–27. doi: 10.1039/C5SC04027B.
 70. Hietaniemi, Veli, Sari Rämö, Tapani Yli-Mattila, Marika Jestoi, Sari Peltonen, Mirja Kartio, Elina Sieviläinen, Tauno Koivisto, and Päivi Parikka. 2016. ‘Updated Survey of *Fusarium* Species and Toxins in Finnish Cereal Grains’. *Food Additives & Contaminants: Part A* 33(5):831–48. doi: 10.1080/19440049.2016.1162112.
 71. Hofgaard, Ingerd S., Till Seehusen, Heidi U. Aamot, Hugh Riley, Jafar Razzaghian, Vinh H. Le, Anne-Grete R. Hjelkrem, Ruth Dill-Macky, and Guro Brodal. 2016. ‘Inoculum Potential of *Fusarium* Spp. Relates to Tillage and Straw Management in Norwegian Fields of Spring Oats’. *Frontiers in Microbiology* 7. doi: 10.3389/fmicb.2016.00556.

72. Hoheneder, Felix, Eva Maria Biehl, Katharina Hofer, Johannes Petermeier, Jennifer Groth, Markus Herz, Michael Rychlik, Michael Heß, and Ralph Hückelhoven. 2022. 'Host Genotype and Weather Effects on Fusarium Head Blight Severity and Mycotoxin Load in Spring Barley'. *Toxins* 14(2):125. doi: 10.3390/toxins14020125.
73. Islam, M. Nazrul, Mitali Banik, Srinivas Sura, James R. Tucker, and Xiben Wang. 2022. 'Implications of Crop Rotation and Fungicide on Fusarium and Mycotoxin Spectra in Manitoba Barley, 2017–2019'. *Toxins* 14(7):463. doi: 10.3390/toxins14070463.
74. Izydorczyk, Marta, Shin Nam, Arzoo Sharma, and Jerry Kletke. 2021. 'Exploring Dry Grain Fractionation as a Means to Valorize High-protein Malting Barley'. *Cereal Chemistry* 98(4):840–50. doi: 10.1002/cche.10426.
75. Janavičienė, Sigita, Audronė Mankevičienė, and Yuliia Kochiieru. 2020. 'The Fate of Deoxynivalenol and Its Derivatives in Spring Wheat Whole-Grain Flour during Storage'. *Zemdirbyste* 107(2):123–30. doi: 10.13080/Z-A.2020.107.016.
76. Janavičienė, Sigita, Audronė Mankevičienė, Yuliia Kochiieru, and Eimantas Venslovas. 2022. 'T-2 and HT-2 Toxins in Harvested Oat Grains and Their Prevalence in Whole Grain Flour during Storage'. <https://doi.org/10.1080/19440049.2022.2063392> 39(7):1284–95. doi: 10.1080/19440049.2022.2063392.
77. Janaviciene, Sigita, Audrone Mankeviciene, Skaidre Suproniene, Yuliia Kochiieru, and Ilona Keriene. 2018. 'The Prevalence of Deoxynivalenol and Its Derivatives in the Spring Wheat Grain from Different Agricultural Production Systems in Lithuania'. *Food Additives & Contaminants: Part A* 35(6):1179–88. doi: 10.1080/19440049.2018.1427893.
78. Janić Hajnal, Elizabet, Jovana Kos, Jelena Krulj, Saša Krstović, Igor Jajić, Lato Pezo, Bojana Šarić, and Nataša Nedeljković. 2017. 'Aflatoxins Contamination of Maize in Serbia: The Impact of Weather Conditions in 2015'. *Food Additives & Contaminants: Part A* 34(11):1999–2010. doi: 10.1080/19440049.2017.1331047.
79. Janić Hajnal, Elizabet, Jovana Kos, Bojana Radić, Mislav Anić, Radmila Radović, Nina Kudumija, Ana Vulić, Sanja Đekić, and Jelka Pleadin. 2023. 'Impact of Climate Changes on the Natural Prevalence of Fusarium Mycotoxins in Maize Harvested in Serbia and Croatia'. *Foods* 2023, Vol. 12, Page 1002 12(5):1002. doi: 10.3390/FOODS12051002.
80. Janssen, E. M., C. Liu, and H. J. Van der Fels-Klerx. 2018. 'Fusarium Infection and Trichothecenes in Barley and Its Comparison with Wheat'. *World Mycotoxin Journal* 11(1):33–46. doi: 10.3920/WMJ2017.2255.
81. Jestoi, M., M. Rokka, T. Yli-Mattila, P. Parikka, A. Rizzo, and K. Peltonen. 2004. 'Presence and Concentrations of the *Fusarium*- Related Mycotoxins Beauvericin, Enniatins and

- Moniliformin in Finnish Grain Samples'. *Food Additives and Contaminants* 21(8):794–802. doi: 10.1080/02652030410001713906.
82. Ji, Xiaofeng, Yingping Xiao, Wen Wang, Wentao Lyu, Xiaoli Wang, Yan Li, Tao Deng, and Hua Yang. 2022. 'Mycotoxins in Cereal-Based Infant Foods Marketed in China: Occurrence and Risk Assessment'. *Food Control* 138:108998. doi: 10.1016/J.FOODCONT.2022.108998.
 83. Jing, Lan, Yan Lu, L Jing, and Y Lu. 2022. 'Impact of Fungi on Agriculture Production, Productivity, and Sustainability'. 401–13. doi: 10.1007/978-981-16-8877-5_19.
 84. Jovaišiene, J., B. Bakutis, V. Baliukoniene, and G. Gerulis. 2016. 'Fusarium and Aspergillus Mycotoxins Effects on Dairy Cow Health, Performance and the Efficacy of Anti-Mycotoxin Additive'. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 19(1):79–87. doi: 10.1515/PJVS-2016-0011.
 85. Kaaya, Archileo N., Herman L. Warren, Samuel Kyamanywa, and William Kyamuhangire. 2005. 'The Effect of Delayed Harvest on Moisture Content, Insect Damage, Moulds and Aflatoxin Contamination of Maize in Mayuge District of Uganda'. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85(15):2595–99. doi: 10.1002/JSFA.2313.
 86. Karlovsky, Petr, Michele Suman, Franz Berthiller, Johan De Meester, Gerhard Eisenbrand, Irène Perrin, Isabelle P. Oswald, Gerrit Speijers, Alessandro Chiodini, Tobias Recker, and Pierre Dussort. 2016. 'Impact of Food Processing and Detoxification Treatments on Mycotoxin Contamination'. *Mycotoxin Research* 32(4):179–205. doi: 10.1007/s12550-016-0257-7.
 87. Karlsson, Ida, Eva Mellqvist, and Paula Persson. 2023. 'Temporal and Spatial Dynamics of Fusarium Spp. and Mycotoxins in Swedish Cereals during 16 Years'. *Mycotoxin Research* 39(1):3–18. doi: 10.1007/s12550-022-00469-9.
 88. Karnatam, Krishna Sai, Bikkasani Mythri, Wajhat Un Nisa, Heena Sharma, Tarun Kumar Meena, Prabhat Rana, Yogesh Vikal, M. Gowda, Baldev Singh Dhillon, and Surinder Sandhu. 2023. 'Silage Maize as a Potent Candidate for Sustainable Animal Husbandry Development—Perspectives and Strategies for Genetic Enhancement'. *Frontiers in Genetics* 14:1150132. doi: 10.3389/FGENE.2023.1150132/BIBTEX.
 89. Karron, Elina, Eve Runno-Paurson, Heino Lõiveke, Bulat Islamov, Mary-Liis Kütt, Tiina Talve, Enn Lauringson, Hanna Horak, Liina Edesi, and Ülo Niinemets. 2020. 'Application of Widely Used Fungicides Does Not Necessarily Affect Grain Yield, and Incidence of Fusarium Spp. and Mycotoxins DON, HT-2 and T-2 in Spring Barley in Northern Climates'. *KVASNY PRUMYSL* 66(1). doi: 10.18832/kp2020.66.215.

90. Kelly, Heather, Autumn McLaughlin, and Elias Zuchelli. 2023. 'Diagnosis and Management of Ear Rot Disease'. *Https://News.Utcrops.Com/Wp-Content/Uploads/2022/08/Corn-Ear-Rots_Mycotoxins_ExtensionPub2022.Pdf* 1–7.
91. Khodaei, Diako, Fardin Javanmardi, and Amin Mousavi Khaneghah. 2021. 'The Global Overview of the Occurrence of Mycotoxins in Cereals: A Three-Year Survey'. *Current Opinion in Food Science* 39:36–42. doi: 10.1016/J.COFS.2020.12.012.
92. Kim, Ye-Geon, Hyun-Hwa Park, Hyo-Jin Lee, Hee-Kwon Kim, and Yong-In Kuk. 2022. 'Growth, Yield, and Grain Quality of Barley (*Hordeum Vulgare* L.) Grown across South Korean Farmlands with Different Temperature Distributions'. *Agronomy* 12(11):2731. doi: 10.3390/agronomy12112731.
93. Kochiieru, Y., A. Mankeviciene, S. Janaviciene, A. Jonaviciene, and J. Ceseviciene. 2019. 'The Influence of Milling and Sifting Processes on Deoxynivalenol Distribution in Whole-Wheat Flour and Its Products'. *World Mycotoxin Journal* 12(2):133–40. doi: 10.3920/WMJ2018.2404.
94. Kochiieru, Yuliia. 2020. 'Mycotoxins in Spring Cereals and Their Effect on the Quality of Grain Products'. Lithuanian Research Centre for Agriculture and Forestry, Kaunas.
95. Kochiieru, Yuliia, Audronė Mankevičienė, Jurgita Cesevičienė, Roma Semaškienė, Zenonas Dabkevičius, and Sigita Janavičienė. 2020. 'The Influence of Harvesting Time and Meteorological Conditions on the Occurrence of Fusarium Species and Mycotoxin Contamination of Spring Cereals'. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 100(7):2999–3006. doi: 10.1002/JSFA.10330.
96. Kochiieru, Yuliia, Audronė Mankevičienė, Jurgita Cesevičienė, Roma Semaškienė, Jūratė Ramanauskienė, Andrii Gorash, Sigita Janavičienė, and Eimantas Venslovas. 2021. 'The Impact of Harvesting Time on Fusarium Mycotoxins in Spring Wheat Grain and Their Interaction with Grain Quality'. *Agronomy 2021, Vol. 11, Page 642* 11(4):642. doi: 10.3390/AGRONOMY11040642.
97. Kos, Jovana, Elizabet Janić Hajnal, Alexandra Malachová, David Steiner, Milena Stranska, Rudolf Krska, Birgit Poschmaier, and Michael Sulyok. 2020. 'Mycotoxins in Maize Harvested in Republic of Serbia in the Period 2012–2015. Part 1: Regulated Mycotoxins and Its Derivatives'. *Food Chemistry* 312:126034. doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2019.126034.
98. Kresović, Branka, Boško Gajić, Angelina Tapanarova, and Goran Dugalić. 2018. 'How Irrigation Water Affects the Yield and Nutritional Quality of Maize (*Zea Mays* L.) in a Temperate Climate'. *Polish Journal of Environmental Studies* 27(3):1123–31. doi: 10.15244/PJOES/76674.

99. Křížová, Ludmila, Kateřina Dadáková, Michaela Dvořáčková, and Tomáš Kašparovský. 2021. 'Feedborne Mycotoxins Beauvericin and Enniatins and Livestock Animals'. *Toxins* 13(1):32. doi: 10.3390/toxins13010032.
100. Lalage, S. S., H. R. Surnar, Y. S. Ekhande, and H. B. Patil. 2023. 'Preseason Promotional and Extension Activities Being Conducted by Research Seed Selling Seed Companies for the Hybrid Maize Crop'. *Asian Journal of Agricultural Extension, Economics & Sociology* 41(9):896–99. doi: 10.9734/AJAEES/2023/V41I92118.
101. Larsson, Martin N. A., Matti W. Leino, and Jenny Hagenblad. 2021. 'Genetic Diversity in 19th Century Barley (*Hordeum Vulgare*) Reflects Differing Agricultural Practices and Seed Trade in Jämtland, Sweden'. *Diversity* 13(7):315. doi: 10.3390/D13070315/S1.
102. Lauren, D. R., D. J. Jensen, and W. A. Smith. 2006. 'Mycotoxin Contamination in Graded Fractions of Maize (*Zea Mays*) in New Zealand'. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 34(1):63–72. doi: 10.1080/01140671.2006.9514389.
103. Leggieri, M. Camardo, A. Lanubile, C. Dall'Asta, A. Pietri, and P. Battilani. 2019. 'The Impact of Seasonal Weather Variation on Mycotoxins: Maize Crop in 2014 in Northern Italy as a Case Study'. <https://doi.org/10.3920/WMJ2019.2475> 13(1):25–36. doi: 10.3920/WMJ2019.2475.
104. Leslie, J. F., and B. A. Summerell. 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Ames, IA, USA: Blackwell Publishing.
105. Li, Mengdi, La Geng, Shanggen Xie, Dezhi Wu, Lingzhen Ye, and Guoping Zhang. 2021. 'Genome-Wide Association Study on Total Starch, Amylose and Amylopectin in Barley Grain Reveals Novel Putative Alleles'. *International Journal of Molecular Sciences* 2021, Vol. 22, Page 553 22(2):553. doi: 10.3390/IJMS22020553.
106. Li, Peng, Ruixue Su, Ruya Yin, Daowan Lai, Mingan Wang, Yang Liu, and Ligang Zhou. 2020. 'Detoxification of Mycotoxins through Biotransformation'. *Toxins* 12(2):121. doi: 10.3390/toxins12020121.
107. Li, Zhongyu, Yan Mao, Jianwen Teng, Ning Xia, Li Huang, Baoyao Wei, and Qingjin Chen. 2020. 'Evaluation of Mycoflora and Citrinin Occurrence in Chinese Liupao Tea'. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 68(43):12116–23. doi: 10.1021/ACS.JAFC.0C04522/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JF0C04522_0003.GIF.
108. Liatukas, Žilvinas, Skaidrė Supronienė, Vytautas Ruzgas, and Algė Leistrumaitė. 2019. 'Effects of Organic Seed Treatment Methods on Spring Barley Seed Quality, Crop, Productivity and Disease Incidence'. *Zemdirbyste-Agriculture* 106(3):241–48. doi: 10.13080/z-a.2019.106.031.

109. Likhayo, Paddy, Anani Y. Bruce, Tadele Tefera, and Jones Mueke. 2018. 'Maize Grain Stored in Hermetic Bags: Effect of Moisture and Pest Infestation on Grain Quality'. *Journal of Food Quality* 2018:1–9. doi: 10.1155/2018/2515698.
110. Liu, Wanmao, Biao Jia, Nazia Baloch, Ying Sun, Guangzhou Liu, Yunshan Yang, Xiaoxia Guo, Bo Ming, Ruizhi Xie, Keru Wang, Shaokun Li, and Peng Hou. 2023. 'Spatial Distribution of Maize Grain Quality and Its Influence by Climatic Factors across China'. *Agronomy Journal*. doi: 10.1002/AGJ2.21362.
111. Liubych, V. V. 2020. 'Productivity Formation of Various Maize Hybrids'. *Collected Works of Uman National University of Horticulture* 1(97):32–44. doi: 10.31395/2415-8240-2020-97-1-32-44.
112. Mankevičienė, A., and O. Auškalnienė. 2004. 'Kukurūzų Grūdų Užterštumas Toksiškais Pelėsiniais Grybais Ir Mikotoksinais'. *Gyvininkystė* 45:58–70.
113. Mankevičienė, Audronė, Bronislava Butkutė, Irena Gaurilčikienė, Zenonas Dabkevičius, and Skaidrė Supronienė. 2011. 'Risk Assessment of Fusarium Mycotoxins in Lithuanian Small Cereal Grains'. *Food Control* 22(6):970–76. doi: 10.1016/j.foodcont.2010.12.004.
114. Mankevičienė, Audronė, Roma Semaškienė, Zenonas Dabkevičius, Yuliia Kochiieru, Sigita Janavičienė, and Akvilė Jonavičienė. 2019. 'Do Black Dots on Wheat Grains Have an Impact on Deoxynivalenol Accumulation?' *Zemdirbyste* 106(3):249–56. doi: 10.13080/Z-A.2019.106.032.
115. Manna, Mohamed, and Ki Deok Kim. 2017. 'Influence of Temperature and Water Activity on Deleterious Fungi and Mycotoxin Production during Grain Storage'. *Mycobiology* 45(4):240–54. doi: 10.5941/MYCO.2017.45.4.240.
116. Ben Mariem, Sinda, David Soba, Bangwei Zhou, Irakli Loladze, Fermín Morales, and Iker Aranjuelo. 2021. 'Climate Change, Crop Yields, and Grain Quality of C3 Cereals: A Meta-Analysis of [CO₂], Temperature, and Drought Effects'. *Plants* 10(6):1052. doi: 10.3390/plants10061052.
117. Mašauskienė, A., A. Leistrumaitė, and V. Paplauskienė. 2007. 'The Single Grain Traits for the Evaluation of Spring Malting Barley Breeding Lines'. *Zemdirbyste-Agriculture* 94(4):88–98.
118. Mathur, S. B., and O. Kongsdal. 2003. *Laboratory Seed Health Testing Methods for Detecting Fungi*. 1st ed. : Bassersdorf, Switzerland: International Seed Testing Association (ISTA).
119. Mavrommatis, Alexandros, Elisavet Giamouri, Savvina Tavrizelou, Maria Zacharioudaki, George Danezis, Panagiotis E. Simitzis, Evangelos Zoidis, Eleni Tsiplakou, Athanasios C.

- Pappas, Constantinos A. Georgiou, and Kostas Feggeros. 2021. 'Impact of Mycotoxins on Animals' Oxidative Status'. *Antioxidants* 10(2):214. doi: 10.3390/antiox10020214.
120. Medina, Ángel, Alicia Rodríguez, and Naresh Magan. 2015. 'Climate Change and Mycotoxigenic Fungi: Impacts on Mycotoxin Production'. *Current Opinion in Food Science* 5:99–104. doi: 10.1016/j.cofs.2015.11.002.
121. Mesterhazy, Akos, Eva Toldine Toth, Sandor Szel, Monika Varga, and Beata Toth. 2020. 'Resistance of Maize Hybrids to Fusarium Graminearum, F. Culmorum, and F. Verticillioides Ear Rots with Toothpick and Silk Channel Inoculation, as Well as Their Toxin Production'. *Agronomy* 10(9):1283. doi: 10.3390/agronomy10091283.
122. Mesterházy, Ákos, Beáta Tóth, Monika Varga, Tibor Bartók, Ágnes Szabó-Hevér, László Farády, and Szabolcs Lehoczki-Krsjak. 2011. 'Role of Fungicides, Application of Nozzle Types, and the Resistance Level of Wheat Varieties in the Control of Fusarium Head Blight and Deoxynivalenol'. *Toxins* 3(11):1453–83. doi: 10.3390/toxins3111453.
123. Meyer, Jens C., Tim Birr, Inga Hennies, Detlev Wessels, and Karin Schwarz. 2022. 'Reduction of Deoxynivalenol, T-2 and HT-2 Toxins and Associated Fusarium Species during Commercial and Laboratory de-Hulling of Milling Oats'. *Food Additives and Contaminants - Part A* 39(6):1163–83. doi: 10.1080/19440049.2022.2059576/SUPPL_FILE/TFAC_A_2059576_SM5424.PDF.
124. Miedaner, Thomas, and Peter Juroszek. 2021. 'Climate Change Will Influence Disease Resistance Breeding in Wheat in Northwestern Europe'. *Theoretical and Applied Genetics* 134(6):1771–85. doi: 10.1007/S00122-021-03807-0/FIGURES/1.
125. Morcia, Caterina, Giorgio Tumino, Roberta Ghizzoni, Franz Badeck, Veronica Lattanzio, Michelangelo Pascale, and Valeria Terzi. 2016. 'Occurrence of Fusarium Langsethiae and T-2 and HT-2 Toxins in Italian Malting Barley'. *Toxins* 8(8):247. doi: 10.3390/toxins8080247.
126. Moretti, Antonio, Michelangelo Pascale, and Antonio F. Logrieco. 2019. 'Mycotoxin Risks under a Climate Change Scenario in Europe'. *Trends in Food Science & Technology* 84:38–40. doi: 10.1016/j.tifs.2018.03.008.
127. Nahle, Sahar, André El Khoury, and Ali Atoui. 2021. 'Current Status on the Molecular Biology of Zearalenone: Its Biosynthesis and Molecular Detection of Zearalenone Producing Fusarium Species'. *European Journal of Plant Pathology* 159(2):247–58. doi: 10.1007/s10658-020-02173-9.
128. Nelson, P. E., T. A. Toussoun, and W. F. O. Marasas. 1983. *Fusarium Species: An Illustrated Manual for Identification*. University Park, PA, USA: Pennsylvania State University Press.

129. Neme, Kumera, and Ali Mohammed. 2017. 'Mycotoxin Occurrence in Grains and the Role of Postharvest Management as a Mitigation Strategies. A Review'. *Food Control* 78:412–25. doi: 10.1016/j.foodcont.2017.03.012.
130. Nowak, Rafał, Małgorzata Szczepanek, Karolina Błaszczyk, Joanna Kobus-Cisowska, Anna Przybylska-Balcerek, Kinga Stuper-Szablewska, Jarosław Pobere' Zny, Mohammad Bagher Hassanpouraghdam, and Farzad Rasouli. 2023. 'Impact of the Farming System and Amino-Acid Biostimulants on the Content of Carotenoids, Fatty Acids, and Polyphenols in Alternative and Common Barley Genotypes'. *Agronomy* 2023, Vol. 13, Page 1852 13(7):1852. doi: 10.3390/AGRONOMY13071852.
131. Oas, Sarah E., and Karen R. Adams. 2022. 'The Nutritional Content of Five Southwestern US Indigenous Maize (*Zea Mays* L.) Landraces of Varying Endosperm Type'. *American Antiquity* 87(2):284–302. doi: 10.1017/AAQ.2021.131.
132. OECD/FAO. 2022. *OECD-FAO Agricultural Outlook 2022-2031*. Paris: OECD Publishing.
133. Oficialiosios statistikos portalas. 2023. 'Oficialiosios Statistikos Portalas'. Retrieved 4 September 2023 (<https://osp.stat.gov.lt/statistiniu-rodikliu-analize#/>).
134. Oliveira, Maurício S., Alexandre Rocha, Michael Sulyok, Rudolf Krska, and Carlos A. Mallmann. 2017. 'Natural Mycotoxin Contamination of Maize (*Zea Mays* L.) in the South Region of Brazil'. *Food Control* 73:127–32. doi: 10.1016/j.foodcont.2016.07.033.
135. Orlando, Béatrice, Guénolé Grignon, Cindy Vitry, Kambiz Kashefifard, and Romain Valade. 2019. 'Fusarium Species and Enniatin Mycotoxins in Wheat, Durum Wheat, Triticale and Barley Harvested in France'. *Mycotoxin Research* 35(4):369–80. doi: 10.1007/s12550-019-00363-x.
136. Parent, Boris, Margot Leclere, Sébastien Lacube, Mikhail A. Semenov, Claude Welcker, Pierre Martre, and François Tardieu. 2018. 'Maize Yields over Europe May Increase in Spite of Climate Change, with an Appropriate Use of the Genetic Variability of Flowering Time'. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115(42):10642–47. doi: 10.1073/PNAS.1720716115/SUPPL_FILE/PNAS.1720716115.SAPP.PDF.
137. Pathi, Krishna Mohan, Philipp Rink, Nagaveni Budhagatapalli, Ruben Betz, Indira Saado, Stefan Hiekel, Martin Becker, Armin Djamei, and Jochen Kumlehn. 2020. 'Engineering Smut Resistance in Maize by Site-Directed Mutagenesis of LIPOXYGENASE 3'. *Frontiers in Plant Science* 11:543895. doi: 10.3389/FPLS.2020.543895/BIBTEX.

138. Patriarca, Andrea, and Virginia Fernández Pinto. 2017. 'Prevalence of Mycotoxins in Foods and Decontamination'. *Current Opinion in Food Science* 14:50–60. doi: 10.1016/j.cofs.2017.01.011.
139. Pei, Penggang, Ke Xiong, Xiaoyi Wang, Baoguo Sun, Zhiyao Zhao, Xin Zhang, and Jiabin Yu. 2022. 'Predictive Growth Kinetic Parameters and Modelled Probabilities of Deoxynivalenol Production by *Fusarium Graminearum* on Wheat during Simulated Storing Conditions'. *Journal of Applied Microbiology* 133(2):349–61. doi: 10.1111/JAM.15557.
140. Perera, W. Nipuna U., M. Reza Abdollahi, Faegheh Zaefarian, Timothy J. Wester, and Velmurugu Ravindran. 2022. 'Barley, an Undervalued Cereal for Poultry Diets: Limitations and Opportunities'. *Animals* 2022, Vol. 12, Page 2525 12(19):2525. doi: 10.3390/ANI12192525.
141. Pereyra, Carina M., Lilia Renée Cavaglieri, Stella M. Chiacchiera, and Ana M. Dalcero. 2011. 'Mycobiota and Mycotoxins Contamination in Raw Materials and Finished Feed Intended for Fattening Pigs Production in Eastern Argentina'. *Veterinary Research Communications* 35(6):367–79. doi: 10.1007/s11259-011-9483-9.
142. Pernica, Marek, Blanka Kyralová, Zdeněk Svoboda, Rastislav Boško, Iveta Brožková, Lenka Česlová, Karolína Benešová, Libor Červenka, and Sylvie Běláková. 2022. 'Levels of T-2 Toxin and Its Metabolites, and the Occurrence of *Fusarium* Fungi in Spring Barley in the Czech Republic'. *Food Microbiology* 102:103875. doi: 10.1016/j.fm.2021.103875.
143. Perrone, Giancarlo, Massimo Ferrara, Angel Medina, Michelangelo Pascale, and Naresh Magan. 2020. 'Toxigenic Fungi and Mycotoxins in a Climate Change Scenario: Ecology, Genomics, Distribution, Prediction and Prevention of the Risk'. *Microorganisms* 2020, Vol. 8, Page 1496 8(10):1496. doi: 10.3390/MICROORGANISMS8101496.
144. Pfordt, Annette, Lucia Ramos Romero, Simon Schiwiek, Petr Karlovsky, and Andreas von Tiedemann. 2020. 'Impact of Environmental Conditions and Agronomic Practices on the Prevalence of *Fusarium* Species Associated with Ear- and Stalk Rot in Maize'. *Pathogens* 2020, Vol. 9, Page 236 9(3):236. doi: 10.3390/PATHOGENS9030236.
145. Phokane, Sylvia, Bradley C. Flett, Edson Ncube, John P. Rheeder, and Lindy J. Rose. 2019. 'Agricultural Practices and Their Potential Role in Mycotoxin Contamination of Maize and Groundnut Subsistence Farming'. *South African Journal of Science* 115(9/10). doi: 10.17159/SAJS.2019/6221.
146. Piacentini, Karim C., L. O. Rocha, G. D. Savi, L. Carnielli-Queiroz, F. G. Almeida, E. Minella, and B. Corrêa. 2018. 'Occurrence of Deoxynivalenol and Zearalenone in Brewing Barley Grains from Brazil'. *Mycotoxin Research* 34(3):173–78. doi: 10.1007/s12550-018-0311-8.

147. Piacentini, Karim, Liliana Rocha, Geovana Savi, Lorena Carnielli-Queiroz, Livia De Carvalho Fontes, and Benedito Correa. 2019. 'Assessment of Toxigenic Fusarium Species and Their Mycotoxins in Brewing Barley Grains'. *Toxins* 11(1):31. doi: 10.3390/toxins11010031.
148. Pleadin, J. 2015. 'Mycotoxins in Grains and Feed - Contamination and Toxic Effect in Animals'. *Biotechnology in Animal Husbandry* 31(4):441–56. doi: 10.2298/BAH1504441P.
149. Prosperini, Alessandra, Houada Berrada, María José Ruiz, Francesca Caloni, Teresa Coccini, Leon J. Spicer, Maria Chiara Perego, and Alessandra Lafranconi. 2017. 'A Review of the Mycotoxin Enniatin B'. *Frontiers in Public Health* 5. doi: 10.3389/fpubh.2017.00304.
150. Radócz, László, Atala Szabó, András Tamás, Árpád Illés, Csaba Bojtor, Péter Ragán, Attila Vad, Adrienn Széles, Endre Harsányi, and László Radócz. 2023. 'Investigation of the Detectability of Corn Smut Fungus (*Ustilago Maydis* DC. Corda) Infection Based on UAV Multispectral Technology'. *Agronomy* 2023, Vol. 13, Page 1499 13(6):1499. doi: 10.3390/AGRONOMY13061499.
151. Rodrigues, SIFC, JH Stringhini, AML Ribeiro, GC Pontalti, and CM McManus. 2014. 'Quality Assessment of Corn Batches Received at a Feed Mill in the Brazilian Cerrado'. *Revista Brasileira de Ciência Avícola* 16(3):233–40. doi: 10.1590/1516-635x1603233-240.
152. Ruan, Xinsen, Liang Ma, Yingying Zhang, Qing Wang, and Xiquan Gao. 2021. 'Dissection of the Complex Transcription and Metabolism Regulation Networks Associated with Maize Resistance to *Ustilago Maydis*'. *Genes* 12(11):1789. doi: 10.3390/GENES12111789/S1.
153. Sasamalo, Mahamudu Mohamed, Jovin K. Mugula, and Chacha Nyangi. 2018. 'Aflatoxins Contamination of Maize at Harvest and during Storage in Dodoma, Tanzania'. *International Journal of Innovative Research & Development* 7(6):11–15. doi: https://www.internationaljournalcorner.com/index.php/ijird_ojs/article/view/137029.
154. Seleiman, Mahmoud F., Shaimaa Selim, Seija Jaakkola, and Pirjo S. A. Mäkelä. 2017. 'Chemical Composition and in Vitro Digestibility of Whole-Crop Maize Fertilized with Synthetic Fertilizer or Digestate and Harvested at Two Maturity Stages in Boreal Growing Conditions'. *Agricultural and Food Science* 26(1):47–55. doi: 10.23986/AFSCI.60068.
155. Sertova, N. 2021. 'Occurrence of Zearalenone and Ochratoxin A in Wheat and Barley in Some Regions in Bulgaria'. *Journal of Animal Husbandry/Životnov Dni Nauki* 58(3):56–61.
156. Sinkovič, Lovro, Marianna Rakszegi, Barbara Pipan, and Vladimir Meglič. 2023. 'Compositional Traits of Grains and Groats of Barley, Oat and Spelt Grown at Organic and

- Conventional Fields'. *Foods* 2023, Vol. 12, Page 1054 12(5):1054. doi: 10.3390/FOODS12051054.
157. Somma, Stefania, Valentina Scarpino, Fabrizio Quaranta, Antonio F. Logrieco, Amedeo Reyneri, Massimo Blandino, and Antonio Moretti. 2022. 'Impact of Fungicide Application to Control T-2 and HT-2 Toxin Contamination and Related Fusarium Sporotrichioides and F. Langsethiae Producing Species in Durum Wheat'. *Crop Protection* 159:106020. doi: 10.1016/J.CROPRO.2022.106020.
158. Stathers, Tanya E., Sarah E. J. Arnold, Corinne J. Rumney, and Clare Hopson. 2020. 'Measuring the Nutritional Cost of Insect Infestation of Stored Maize and Cowpea'. *Food Security* 12(2):285–308. doi: 10.1007/s12571-019-00997-w.
159. Subrin, Sumaiya, M. Faridul Islam, Mohammed A. Satter, Jamilur Rahman, M. Salma Zannat, M. G. Ferdous Chowdhury, and Ashrafi Hossain. 2022. 'Physico-Functional and Nutritional Properties of Pigmented and Non-Pigmented Maize Available In Bangladesh'. *Bangladesh Journal of Botany* 51(3):589–96. doi: 10.3329/BJB.V51I3.62006.
160. Suganya, A., A. Saravanan, and N. Manivannan. 2020. 'Role of Zinc Nutrition for Increasing Zinc Availability, Uptake, Yield, and Quality of Maize (*Zea Mays* L.) Grains: An Overview'. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 51(15):2001–21. doi: 10.1080/00103624.2020.1820030.
161. Szőke, Lóránt, Makoena Joyce Moloi, Gabriella Enikő Kovács, Györgyi Biró, László Radócz, Mária Takácsné Hájos, Béla Kovács, Dalma Rácz, Mátyás Danter, and Brigitta Tóth. 2021. 'The Application of Phytohormones as Biostimulants in Corn Smut Infected Hungarian Sweet and Fodder Corn Hybrids'. *Plants* 10(9):1822. doi: 10.3390/plants10091822.
162. Szulc, Piotr, Katarzyna Ambroży-Deręgowska, Joanna Kobus-Cisowska, Przemysław Kardasz, and Rafał Nowaczyk. 2022. 'The Role of Maize Variety (*Zea Mays* L.) in Shaping the Grain Vitamin Content'. *Biometrical Letters* 59(2):171–77. doi: 10.2478/bile-2022-0012.
163. Szulc, Piotr, Katarzyna Ambroży-Deręgowska, Iwona Mejza, Joanna Kobus-Cisowska, Marta Ligaj, and Daniel Krauklis. 2020. 'The Role of Agrotechnical Factors in Shaping the Health of Maize Plants (*Zea Mays* L.)'. *Polish Journal of Environmental Studies* 30(1):863–69. doi: 10.15244/PJOES/122447.
164. Trono, Daniela. 2019. 'Carotenoids in Cereal Food Crops: Composition and Retention throughout Grain Storage and Food Processing'. *Plants* 8(12):551. doi: 10.3390/plants8120551.

165. Trucksess, M. W., C. M. Weaver, and K. D. White. 2010. 'Determination of Deoxynivalenol in Processed Foods'. *Journal of AOAC International* 93(4):1236–42.
166. Tyska, D., A. O. Mallmann, J. K. Vidal, C. T. Simões, and C. A. Mallmann. 2023. 'Near-Infrared Spectroscopy to Assess Mycotoxins Contamination and Nutritional Composition of Maize Marketed in South America, Years 2020-2021'. *World Mycotoxin Journal* 16(1):85–96. doi: 10.3920/WMJ2022.2774.
167. Vandicke, Jonas, Katrien De Visschere, Siska Croubels, Sarah De Saeger, Kris Audenaert, and Geert Haesaert. 2019. 'Mycotoxins in Flanders' Fields: Occurrence and Correlations with Fusarium Species in Whole-Plant Harvested Maize'. *Microorganisms* 2019, Vol. 7, Page 571 7(11):571. doi: 10.3390/MICROORGANISMS7110571.
168. Varga, Elisabeth, Alexandra Malachova, Heidi Schwartz, Rudolf Krska, and Franz Berthiller. 2013. 'Survey of Deoxynivalenol and Its Conjugates Deoxynivalenol-3-Glucoside and 3-Acetyl-Deoxynivalenol in 374 Beer Samples'. *Food Additives & Contaminants: Part A* 30(1):137–46. doi: 10.1080/19440049.2012.726745.
169. Vila-Donat, P., S. Marín, V. Sanchis, and A. J. Ramos. 2018. 'A Review of the Mycotoxin Adsorbing Agents, with an Emphasis on Their Multi-Binding Capacity, for Animal Feed Decontamination'. *Food and Chemical Toxicology* 114:246–59. doi: 10.1016/j.fct.2018.02.044.
170. Walker, S., R. Jaime, V. Kagot, and C. Probst. 2018. 'Comparative Effects of Hermetic and Traditional Storage Devices on Maize Grain: Mycotoxin Development, Insect Infestation and Grain Quality'. *Journal of Stored Products Research* 77:34–44. doi: 10.1016/J.JSPR.2018.02.002.
171. Weaver, Alexandra, M. See, Jeff Hansen, Yong Kim, Anna De Souza, Teena Middleton, and Sung Kim. 2013. 'The Use of Feed Additives to Reduce the Effects of Aflatoxin and Deoxynivalenol on Pig Growth, Organ Health and Immune Status during Chronic Exposure'. *Toxins* 5(7):1261–81. doi: 10.3390/toxins5071261.
172. Wei, Jin-Tao, Kun-Tan Wu, Hua Sun, Mahmoud Mohamed Khalil, Jie-Fan Dai, Ying Liu, Qiang Liu, Ni-Ya Zhang, De-Sheng Qi, and Lv-Hui Sun. 2019. 'A Novel Modified Hydrated Sodium Calcium Aluminosilicate (HSCAS) Adsorbent Can Effectively Reduce T-2 Toxin-Induced Toxicity in Growth Performance, Nutrient Digestibility, Serum Biochemistry, and Small Intestinal Morphology in Chicks'. *Toxins* 11(4):199. doi: 10.3390/toxins11040199.
173. Wojcieszak, Dawid, Jacek Przybył, Izabela Ratajczak, Piotr Goliński, Damian Janczak, Agnieszka Waśkiewicz, Kinga Szentner, and Magdalena Woźniak. 2020. 'Chemical

- Composition of Maize Stover Fraction versus Methane Yield and Energy Value in Fermentation Process'. *Energy* 198:117258. doi: 10.1016/J.ENERGY.2020.117258.
174. Workneh, Tilahun Seyoum, Francis Collins Muga, and Moses Okoth Marenya. 2019. 'Effect of Temperature, Relative Humidity and Moisture on Aflatoxin Contamination of Stored Maize Kernels'. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 25(2):271–77.
175. Worku, Admasu Fanta, Merkuza Abera, Karta Kaske Kalsa, Bhadriraju Subramanyam, and Nigus Gabbiye Habtu. 2019. 'Occurrence of Mycotoxins in Stored Maize in Ethiopia'. *Ethiopian Journal of Agricultural Sciences* 29(2):31–43.
176. Wu, Qinghua, Xu Wang, Eugenie Nepovimova, Yun Wang, Hualin Yang, Li Li, Xiujuan Zhang, and Kamil Kuca. 2017. 'Antioxidant Agents against Trichothecenes: New Hints for Oxidative Stress Treatment'. *Oncotarget* 8(66):110708–26. doi: 10.18632/oncotarget.22800.
177. Xue, Allen G., John Rowsell, Keh Ming Ho, Yuanhong Chen, Dawn T. Chi, Ameer Manceur, Shuzhen Zhang, and Changzhong Ren. 2013. 'Effect of Harvest Date on Barley Grain Contamination with Fusarium Spp. and Deoxynivalenol in Northeastern Ontario'. *Phytoprotection* 93(1):1–7. doi: 10.7202/1015205ar.
178. Yang, Hee E., Claiton A. Zotti, John J. McKinnon, and Tim A. McAllister. 2018. 'Lactobacilli Are Prominent Members of the Microbiota Involved in the Ruminant Digestion of Barley and Corn'. *Frontiers in Microbiology* 9(APR):334242. doi: 10.3389/FMICB.2018.00718/BIBTEX.
179. Yemm, E. W., and A. J. Willis. 1954. 'The Estimation of Carbohydrates in Plant Extracts by Anthrone'. *Biochemical Journal* 57(3):508–14. doi: 10.1042/bj0570508.
180. Yu, Chunyan, Jianzhao Qi, Haiyan Han, Pengchao Wang, and Chengwei Liu. 2023. 'Progress in Pathogenesis Research of Ustilago Maydis, and the Metabolites Involved along with Their Biosynthesis'. *Molecular Plant Pathology* 24(5):495–509. doi: 10.1111/MPP.13307.
181. Zhang, Huijie, Juan Sun, Yan Zhang, Meibin Lu, Lijuan Sun, Weixi Li, Xuexu Hu, and Bujun Wang. 2016. 'Retention of Deoxynivalenol and Its Derivatives during Storage of Wheat Grain and Flour'. *Food Control* 65:177–81. doi: 10.1016/J.FOODCONT.2015.12.019.
182. Zhao, Rulang, Yonghong Wang, Xiaofang Yu, Wanmao Liu, Daling Ma, Hongyan Li, Bo Ming, Wenjie Zhang, Qiming Cai, Julin Gao, and Shaokun Li. 2023. 'Dynamics of Maize Grain Weight and Quality during Field Dehydration and Delayed Harvesting'. *Agriculture* 13(7):1357. doi: 10.3390/agriculture13071357.

183. Zhu, Yan, Yousef I. Hassan, Christena Watts, and Ting Zhou. 2016. 'Innovative Technologies for the Mitigation of Mycotoxins in Animal Feed and Ingredients—A Review of Recent Patents'. *Animal Feed Science and Technology* 216:19–29. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2016.03.030.
184. Zingales, Veronica, Mercedes Taroncher, Piera Anna Martino, María José Ruiz, and Francesca Caloni. 2022. 'Climate Change and Effects on Molds and Mycotoxins'. *Toxins* 2022, Vol. 14, Page 445 14(7):445. doi: 10.3390/TOXINS14070445.
185. Поспелов, С. В., Г. Д. Поспелова, Н. І. Нечипоренко, Н. П. Коваленко, and В. В. Охріменко. 2021. 'МОНІТОРИНГ ХВОРОБ КУКУРУДЗИ В УМОВАХ ПОЛТАВСЬКОГО РЕГІОНУ'. *Вісник Полтавської Державної Аграрної Академії* (3):37–44. doi: 10.31210/visnyk2021.03.04.

PASKELBTŲ PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS DISERTACIJOS TEMA

Straipsniai leidiniuose, referuojamuose ir turinčiuose citavimo indeksų duomenų bazėje „Clarivate Analytics Web of Science“:

1. **Venslovas E.**, Mankevičienė A., Kochiieru Y., Merkevičiūtė-Venslovė L., Janavičienė S. 2022. Effect of storage conditions on the occurrence of mycotoxins and nutrient composition in maize grains. *Zemdirbyste-Agriculture*, 109 (4): 359–364. IF – 0,9.
2. **Venslovas E.**, Mankevičienė A., Kochiieru Y., Janavičienė S., Dabkevičius Z., Bartkevičs V., Bērziņa Z., Pavlenko R. 2023. The effect of *Ustilago maydis* and delayed harvesting on A- and B-type trichothecene concentrations in maize grain. *Journal of Fungi*, 9 (8): 794. IF – 5,2.

Santraukos disertacijos tema konferencijų leidiniuose:

1. **Venslovas E.**, Kochiieru Y., Mankevičienė A. 2020. Kukurūzų grūdų kokybės rodiklių kitimas sandėliuojant ir citrinino atsiradimo rizika. 9-osios Jaunųjų mokslininkų konferencijos „Jaunieji mokslininkai – žemės ūkio pažangai“ pranešimų tezės, p. 38.
2. **Venslovas E.**, Kochiieru Y., Mankevičienė A., Merkevičiūtė-Venslovė L., Janavičienė S. The changes in deoxynivalenol concentration and nutritive composition in maize grains due delaying harvesting. „CYSENI 2021“ konferencijos leidinyje, 2021, 998–1005 p.
3. **Venslovas E.**, Kochiieru Y., Mankevičienė A., Janavičienė S., Merkevičiūtė-Venslovė L. Risk of changes in nutritive value and mycotoxin concentration in maize grains during storage. „42nd Mycotoxin Workshop“ konferencijos leidinyje, 2021, 94 p.
4. **Venslovas E.**, Mankevičienė A., Merkevičiūtė-Venslovė L. Pūslėtųjų kūlių paplitimas kukurūzų pasėlyje ir jų įtaka derliaus kokybės rodikliams. 10-osios Jaunųjų mokslininkų konferencijos „Jaunieji mokslininkai – žemės ūkio pažangai“ pranešimų tezės, 2021, p. 19.
5. **Venslovas E.**, Mankevičienė A., Kochiieru Y. Harvest time impact on maize grains nutrient composition and zearalenone concentration. „CYSENI 2022“ konferencijos leidinys 2022, 564 – 566 p.
6. **Venslovas E.**, Mankevičienė A., Kochiieru Y., Janavičienė S. Distribution of T-2 and HT-2 toxins in Lithuanian maize grain during different harvest time. „43rd Mycotoxin Workshop“ konferencijos leidinyje, 2022, 66 p.
7. **Venslovas E.**, Janavičienė S. Risk of mycotoxin formation in barley grain during delayed harvesting. „AgroEco2022“ konferencijos leidinyje, 2022, 67 p.

8. **Venlovas E.** Mycotoxin prevalence in grain of maize hybrids and barley cultivars during delayed harvesting. „CYSENI 2023“ konferencijos leidinyje, 2023, 71 p.
9. **Venslovas E.**, Mankevičienė A., Kochiiaru Y., Janavičienė S. Occurrence of „emerging“ mycotoxins and their producers in spring barley and their relation to nutrient composition in Lithuania. „44th Mycotoxin Workshop“ konferencijos leidinyje, 2023, 72 p.

Mokslo populiarinimo straipsniai:

1. **Venslovas E.**, Mankevičienė A. 2022/kovas. Pūslėtosios kūlės kukurūzų pasėliuose – sausros ir karšto oro ryškė. Mano ūkis, 32–37 p.
2. Janavičienė S., **Venslovas E.** 2023/vasaris. Mikotoksinų rizika miežuose. Mano ūkis, 31–33 p.

Rekomendacijos:

1. Mankevičienė A. **Venslovas E.** 2023. Ar kukurūzų pasėlių užterštumas pūslėtosiomis kūlėmis gali turėti įtakos mikotoksinų kiekiui grūduose? Naujausios rekomendacijos žemės ir miškų ūkiui. Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centras, 15 p.
2. Mankevičienė A. **Venslovas E.** 2023. Citrinino atsiradimo rizika sandėliuojamų kukurūzų grūduose. Naujausios rekomendacijos žemės ir miškų ūkiui. Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centras, 16 p.

ISSN 1392-3196 / e-ISSN 2335-8947

Zemdirbyste-Agriculture, vol. 109, No. 4 (2022), p. 359–364

DOI 10.13080/z-a.2022.109.046

Effect of storage conditions on the occurrence of mycotoxins and nutrient composition in maize grains

Eimantas VENSLOVAS, Audronė MANKEVIČIENĖ, Yuliia KOCHIIERU,
Lauksmė MERKEVIČIŪTĖ-VENSLOVĖ, Sigita JANAVIČIENĖ

Lithuanian Research Centre for Agriculture and Forestry
Instituto Av. 1, Akademija, Kėdainiai dist., Lithuania
E-mail: eimantas.venslovas@lammc.lt

Abstract

The aim of this study was to determine how citrinin (CIT), aflatoxins (AFL_{B1+B2+G1+G2}), ochratoxin A (OTA), zearalenone (ZEA), and deoxynivalenol (DON) concentrations vary under different maize grains storage conditions and how they affect grain quality. Analyses of mycotoxins: AFL_{B1+B2+G1+G2}, CIT, DON, ZEA, and OTA, and grain quality: dry matter (DM) content, crude protein (CP), crude ash (CA), crude fibre (CF), crude fat, and starch, were performed at the beginning of the experiment and then after 3 and 6 months of storage. The results of the experiment showed that the duration of storage had the greatest influence on the formation of AFL_{B1+B2+G1+G2} when an average concentration increased about three times after 6 months of storage, regardless of storage conditions. The duration of storage also had a significant effect on CIT accumulation, as it was not detected in the maize grain samples before the experiment, and after 6 months of storage, the concentration ranged from 93 to 184 µg kg⁻¹. It was also noted that there is no risk of an increase in the concentrations of DON, ZEA, and OTA in maize grains when dried grains are stored well (up to 7% moisture content). The DON concentration after 6 months of storage at 12°C and 20°C and in the warehouse decreased about two times, while at 4°C after 3 months of storage it also decreased, and then after 6 months it increased to the same concentration as at the beginning of the experiment. Throughout the experimental period, ZEA and OTA concentrations were slightly above or below the limit of detection (LOD). The nutrient composition after 6 months of storage was only different after storage at 20°C temperature. The increase in starch content was accompanied by an increase in the DM content. Strong positive correlations were observed: as the concentrations of AFL_{B1+B2+G1+G2} and CIT increased, so did the DM content, while the crude protein content increased with increasing the DON concentration.

Keywords: aflatoxins (B1+B2+G1+G2), citrinin, deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, maize grain.

Introduction

Maize (*Zea mays* L.) is one of the most important food staples and one of the most widely consumed cereal crops worldwide (OECD/FAO, 2019). Maize grains are composed of ~9% protein, ~4% fat, ~71–74% starch and fibre as well as microelements (beta-carotene, vitamin B complex) and minerals (magnesium, phosphorus, zinc, copper, etc.) (Kumar, Jhariya, 2013; Lu et al., 2019). Global warming offers new opportunities for maize production, especially in the northern parts of Europe (Hakala et al., 2011). In Lithuania, over the last decade maize grain production increased more than two times from 47.5 to 104.7 thousand tonnes (Official Statistics Portal, 2022).

However, maize is also a target for toxigenic fungal infections. Infections can occur during the growing season or after harvest, storage, and transport, often leading to mycotoxin contamination (Eskola et al., 2020). In addition, due to global warming, many plant pathogens, insect pests and other harmful and beneficial organisms will also find new opportunities in Northern

Europe (Hakala et al., 2011; Miedaner, Juroszek, 2021a). Insects feed on maize plants and create wounds through which fungal species can invade and produce mycotoxins (Miedaner, Juroszek, 2021b).

Species of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Monascus*, and *Fusarium* produce mycotoxins that are of the greatest concern worldwide: aflatoxins (AFL), ochratoxin A (OTA), deoxynivalenol (DON), zearalenone (ZEA), and citrinin (CIT) (He, Cox, 2016; Carbas et al., 2021; Pei et al., 2022; Zingales et al., 2022). Some species need tropical / subtropical climatic regions, while others can grow and produce mycotoxins at temperate climatic regions (Zingales et al., 2022). Increased climate variability is expected to increase the likelihood of mycotoxin accumulation in the field as well as in post-harvest storage (FAO, 2020). It is known that good agricultural and storage practices can reduce fungal development as well as mycotoxin contamination (Perrone et al., 2020). Therefore, to prevent over-contamination of food and feed with mycotoxins, it is important to monitor changes

Please use the following format when citing the article:

Venslovas E., Mankevičienė A., Kochiieru Y., Merkevičiūtė-Venslovė L., Janavičienė S. 2022. Effect of storage conditions on the occurrence of mycotoxins and nutrient composition in maize grains. Zemdirbyste-Agriculture, 109 (4): 359–364. <https://doi.org/10.13080/z-a.2022.109.046>

in mycotoxin concentrations and ensure favourable storage conditions.

Research in China indicates that DON, ZEA, OTA, tenuazonic acid, alternariol, alternariol monomethyl ether, fumonisin B1, and fumonisin B2 can be found in cereal crops intended for infant foods and chronic dietary risk for some of them was not acceptable (Ji et al., 2022). Researchers in Poland and Latvia also detected mycotoxins in food samples of cereals and flour, and some samples exceeded the maximum allowable level. Researchers state that it is necessary to continue monitoring mycotoxin occurrence in food samples (Kowalska, Kowalski, 2021; Reinholds et al., 2021). Mycotoxins can have carcinogenic, mutagenic, teratogenic, hepatotoxic, and estrogenic effects in humans or animals (Khodaei et al., 2021). Due to the risk to human and animal health when mycotoxins are ingested with food or feed, the European Commission has set a limit for the mycotoxin content of maize and maize-based products (European Commission, 2006 a; b; 2007).

Efforts to control mycotoxin contamination in food should cover the whole industry from agricultural practices to the table (Ji et al., 2022). Atanda et al. (2011) state that storing grains with the moisture content higher than 13% at 10–40°C temperature can lead to a higher mycotoxin contamination. However, there is still a lack of detailed information on the storage of maize grains and the associated risk of mycotoxins contamination (Phokane et al., 2019). Storage facilities are control points that should be continuously evaluated to ensure a good value for agricultural products (Phokane et al., 2019).

Therefore, the aim of this study was to determine how CIT, AFL, OTA, ZEA, and DON concentrations vary under different maize grains storage conditions and how they affect grain quality.

Table 1. Sample of maize grains storage conditions (temperature and humidity)

Storage conditions		Experimental period		Average
Place	Parameter	18 October 2020 – 18 May 2021		
Storage room (depends on outdoor conditions)	temperature °C	2.3–11.8		5.7
	humidity %	54–86		73
Laboratory	temperature °C	18.3–22.5		19.9
	humidity %	22–49		37.6
Refrigerator	temperature °C	3.0–5.4		4.0
	humidity %	29–70		44
Binder thermostat	temperature °C	11.9–12.5		12.1
	humidity %	44–75		58

analysis has been approved by the AOAC Research Institute (Certificate No. 950702). The optical densities of the samples and controls from a standard curve were estimated using a 450 nm filter by a multichannel photometer Multiskan Ascent (Thermo Electron Corp., Finland) supplied with the internal software.

To determine the sample contamination with DON, the HPLC (high-performance liquid chromatography) system (Shimadzu, Japan) was used. The system consists of a LC20 AT pump equipped with a FCV-10AL quaternary valve, an autosampler SIL-20A, a degasser DCU-20A5, a column oven CTO-20A, and a UV detector (Shimadzu), wavelength of 218 nm, equipped with a YMC-Pack Pro C18, 3 µm (4.0 × 150 mm) column. Data were evaluated using the computer program LCsolution LC/GC, version 5.42 (Shimadzu).

Nutrient composition. Near-infrared spectroscopy was used to determine the nutrient composition: crude protein (CP % DM), crude ash (CA % DM), crude fibre (CF % DM), crude fat (% DM), and starch (% DM). Maize grains were ground in an ultra-centrifugal mill ZM 200 (Retsch, Germany) to pass a 1 mm screen. The samples were scanned with a NIRS-6500 device with a sample spinning module (Foss-Perstorp, USA) using

Material and methods

Samples collection. In 2019, maize (*Zea mays* L.) grain samples were collected from five different regions of Lithuania: Šakiai, Kėdainiai, Radviliškis, Pasvalys, and Plungė districts. Storage facilities were chosen by region and where grain maize hybrids were grown. All samples were taken according to the standard procedures (European Commission, 2009). Incremental samples were taken from five different randomly selected places of storage facility immediately after the grain was put into storage after the harvest. All incremental samples were mixed into one aggregate sample (approx. 4 kg). The final sample (approx. 500 g) was made from the homogenised aggregate sample. All samples were dried to ~7% and stored in paper bags for 6 months at 4°C, 12°C, and 20°C in constant temperature incubators and in the warehouse where environmental conditions varied (Table 1). Conditions were selected to cover a wide range of possible variations in temperate climate regions and to provide the missing scientific information in this area. Grain quality and mycotoxin analyses were performed at the beginning of the experiment and then after 3 and 6 months of storage.

Mycotoxin analysis. For the analyses to evaluate grain contamination with CIT, AFL_{B1+B2+G1+G2}, OTA, and ZEA, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used. All samples were analysed in duplicate. The mycotoxins were quantified using Ridascreen® test kits Nos. R5402, R6302, R5202, and R5502 (R-Biopharm, Germany), as instructed by the manufacturer. The manufacturer validated analytical methods with the sample matrices for maize grains. The limit of detection (LOD) of CIT, AFL, OTA, and ZEA was 15, 1.5, 1.3, and 17 µg kg⁻¹, respectively. This method for mycotoxin

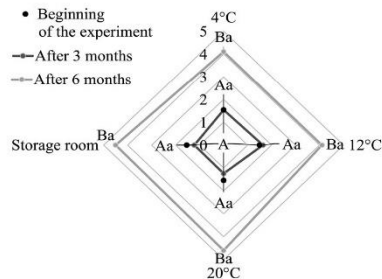
wavelengths between 400 and 2500 nm in reflectance. All samples were analysed in triplicate. The obtained spectra were processed with equations installed in the device (for maize grains – equation from VDLUFA Laboratory, Germany). To determine the dry matter (DM) content, the samples were dried at 105°C temperature until the weight was stable.

Statistical analysis was conducted using the SPSS Statistics, version 25 (IBM Inc.). Significant differences between mycotoxin concentrations and between the nutrient composition in the samples were calculated using the one-way ANOVA (LSD post-hoc test). The Pearson correlation analysis was performed to examine the quantitative relationship between the mycotoxins and nutrient composition. The differences and correlations with $P \leq 0.05$ were considered significant.

Results and discussion

Aflatoxins (AFL). Evaluating how the AFL_{B1+B2+G1+G2} concentration depends on the storage period, it was determined that after 3 months of storage, the concentration remained almost the same ($P > 0.05$). After 6 months, the concentration increased about 3 times from 1.5 ± 0.1 to 4.1 ± 0.4 µg kg⁻¹ storing at 4°C and 12°C

and from 1.5 ± 0.1 to 4.7 ± 0.6 and $4.5 \pm 0.5 \mu\text{g kg}^{-1}$ storing at 20°C and in the storage room, respectively (Figure 1). The concentration increased similarly under all simulated conditions; therefore, there were no significant differences between the $\text{AFL}_{\text{B1+B2+G1+G2}}$ concentration when different storage conditions were compared ($P > 0.05$).



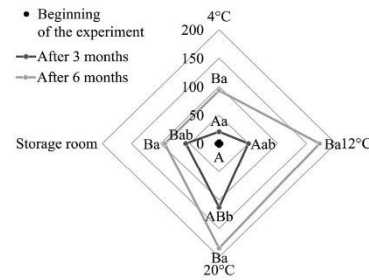
Note. Different lowercase and uppercase letters show significant differences ($P \leq 0.05$) between storage conditions within the same storage period and between storage periods within the same storage conditions, respectively.

Figure 1. Concentration ($\mu\text{g kg}^{-1}$) of aflatoxins (B1+B2+G1+G2) in maize grains during storage in different storage conditions

There is a lack of scientific information on changes in the AFL concentration during storage in Europe and in temperate climate. However, studies in tropical and subtropical climate regions have shown similar results. Research in Tanzania has also showed a significant increase of $\text{AFL}_{\text{B1+B2+G1+G2}}$ after 6 months of maize grains storage (Sasamalo et al., 2018). Study in North-Central Nigeria confirmed that maize grains have a significantly higher $\text{AFL}_{\text{B1+B2+G1+G2}}$ concentration at the storage season than at the harvest (Ezekiel et al., 2021). The increased AFL contamination in maize most commonly is an effect of poor storage practices like poor drying and storing in non-hermetic bags (Walker et al., 2018).

Citrinin (CIT). Before the experiment, maize grains were not contaminated with CIT, while in the storage room where environmental conditions are changing, the CIT concentration after 3 months of storage increased from $<\text{LOD}$ to $56.9 \pm 21.4 \mu\text{g kg}^{-1}$ ($P \leq 0.05$) and after 6 months to $92.9 \pm 17.5 \mu\text{g kg}^{-1}$ ($P \leq 0.01$); however, after samples storing at 4°C , 12°C , and 20°C for 3 months, the CIT concentration did not increase significantly ($P > 0.05$) (Figure 2). Nevertheless, at the end of the experiment, the CIT concentration at 4°C , 12°C and 20°C increased from $<\text{LOD}$ to 93.1 ± 17.6 ($P \leq 0.001$), 172.3 ± 41.7 ($P \leq 0.001$), and 184.5 ± 49 ($P \leq 0.01$) $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectively. Ezekiel et al. (2021) have also noticed that the CIT concentration in maize grains after the 5 months storage session is significantly higher than at the harvest time. It is known that CIT production occurs during drying and storage, and the major producers are the fungi of the genera *Penicillium*, *Aspergillus*, and *Monascus*. *Penicillium citrinum* occurs most commonly in all kinds of food and feed in almost all climatic conditions (Kamle et al., 2022). The presence of these fungi in stored maize samples might explain the obtained results. Comparing different storage conditions within the same storage period, it was observed that after 3 months the CIT concentration was 5 times higher after samples storing at 20°C than at 4°C . However, there were no significant differences ($P > 0.05$) between the CIT concentration comparing other storage conditions after 3 and 6 months of storage.

There is a lack of information about maize grains contamination with CIT during different storage

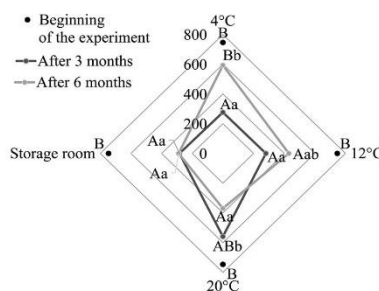


Explanation under Figure 1

Figure 2. Concentration ($\mu\text{g kg}^{-1}$) of citrinin (CIT) in maize grains during storage in different storage conditions

conditions. Muga et al. (2019) and Li et al. (2020) state that temperature between $+25^\circ\text{C}$ and $+42^\circ\text{C}$, higher relative humidity and moisture content facilitate the reproduction and growth of *Aspergillus* and *Penicillium* species and consequently CIT production. The results of the experiments show that CIT is nephrotoxic and may interact with other mycotoxins present in the sample (EFSA, 2012). However, the lack of scientific experiments does not allow one to determine exactly what level of this mycotoxin is already becoming a health risk for humans or animals; therefore, to show the risk of its formation in maize grains during storage, studies on the occurrence of this mycotoxin are needed.

Deoxynivalenol (DON) analysis of stored maize grains did not reveal any significant concentration exceeding the maximum permitted levels (European Commission, 2007) – they were mainly up to $800 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Figure 3). However, during storage, there was a tendency for different temperature regimes and storage exposures to influence the concentration changes of this mycotoxin. It was determined that after 3 months of storage at 4°C , the DON concentration decreased by 2.7 times from 746 ± 112 to $276 \pm 20 \mu\text{g kg}^{-1}$; however, the concentration increased again after 6 months of storage to $593 \pm 110 \mu\text{g kg}^{-1}$ ($P \leq 0.01$). At 12°C and in the storage room, after 3 months the DON concentration also significantly decreased ($P \leq 0.001$) to 280 ± 23 and $283 \pm 28 \mu\text{g kg}^{-1}$, respectively. When determining the concentration again after 6 months, it was observed that they remained similar to those after 3 months ($P > 0.05$). At 20°C , the DON concentration significantly decreased ($P < 0.05$) to $288 \pm 15 \mu\text{g kg}^{-1}$ only after 6 months of storage.



Explanation under Figure 1

Figure 3. Concentration ($\mu\text{g kg}^{-1}$) of deoxynivalenol (DON) in maize grains during storage in different storage conditions

There are not many studies on DON concentration changes in maize grains during storage. Other researchers evaluated DON concentration changes and it was observed that wheat samples storing for 28 days, in samples with moisture content <15% and at 15°C and 20°C there is no toxin production by *F. graminearum* (Pei et al., 2022). Zhang et al. (2016) have noticed that when wheat grains were stored for 180 days at 4°C and at room (18–27°C) temperature, the DON concentration averagely decreased by 40–50%. It was noticed that after 3 months of maize grains storage at 20°C the DON concentration was still 2 times higher compared to other storage conditions ($P \leq 0.01$). However, after 6 months the DON concentration was 1.6 and 2 times higher at 4°C than at 20°C and in the storage room, respectively ($P \leq 0.01$). Research with wheat grain also showed that the greatest decrease of DON concentration was at room temperature, and this observation led to the assumption that DON may decompose during storage (Zhang et al., 2016). Other researchers also state that DON concentration decrease might be explained due to its conjugation to masked forms of the mycotoxin or its conversion to other forms such as the acetylated derivative 15-ADON (Bolanos-Carriel et al., 2020).

The results of the experiment showed that there was no risk of an increase in the DON concentration in well-dried (up to 7% moisture content) maize grains, regardless of storage conditions.

Zearalenone (ZEA) and ochratoxin A (OTA). Throughout the storage period, ZEA and OTA concentrations were often below the LOD (Table 2). Therefore, no significant differences were noticed in the ZEA and OTA concentrations in all the storage conditions and between them ($P > 0.05$). The data of our experiment confirms the previous results where ZEA and OTA concentrations during the storage did not have any tendency to change (Worku et al., 2019; Carbas et al., 2021). This usually depends on whether the meteorological conditions during the growth season before the harvest and storage were favourable for *Fusarium* fungi infection (Carbas et al., 2021). Gaël et al. (2020) found out that during storing maize grains for longer time in the triple bagging system with a different amount of biopesticides, the concentrations of ZEA and OTA mostly started to increase significantly after 10 months of storage. The results of our experiment showed that there was no risk of formation of ZEA and OTA in low moisture (around 7%) maize grains, regardless of storage conditions.

Table 2. Concentration ($\mu\text{g kg}^{-1}$) of zearalenone (ZEA) and ochratoxin A (OTA) in maize grains during storage in different storage conditions

Mycotoxin	Conditions	At the beginning of the experiment	After 3 months	After 6 months
ZEA	4°C	17.9	24.8	<LOD
	12°C		71.8	<LOD
	20°C		25.2	<LOD
	storage room		<LOD	<LOD
OTA	4°C	1.4	<LOD	<LOD
	12°C		<LOD	<LOD
	20°C		1.5	1.6
	storage room		<LOD	<LOD

LOD – limit of detection

Nutrient composition. Significant nutrient composition changes were noticed after 3 and 6 months in the samples that were placed at 20°C (Table 3). After 6 months of storage, the dry matter (DM) and starch content increased by 3.9% and 4.6%, respectively ($P \leq 0.001$); this may have been because conditions (37.6% humidity and 20°C) were much more favourable for maize grains to dry out. Starch is the main nutrient that accumulates in maize grain and its determination is closely linked to the DM content. In the samples that were placed in the storage room after 3 months, DM decreased by 3.7% ($P \leq 0.001$); however, after 6 months it has returned to the original DM content. For the first 3 months, the environment in the storage room was more humid ~79%, and for the next 3 months it was about 67%; this might explain the DM loss after the first 3 months. The CP, CA, CF, and crude fat content did not change significantly during the whole experimental period, regardless of storage conditions.

The research in Slovakia has also showed that environmental conditions can have an impact on moisture

content. For the first 3 months of storage in the warehouse where the environment temperature was ~ -4.7°C and humidity ~94%, the moisture of maize grains increased from 13% to 13.9% (Angelovič et al., 2018). A slightly different study by Bruce et al. (2018) has showed that the moisture content can significantly decrease when maize grains are stored in polypropylene bags at 26°C and 54% of humidity; these results confirm our findings.

Correlation. Strong positive correlations ($P \leq 0.01$) were observed between the $\text{AFL}_{\text{B1+B2+G1+G2}}$ and CIT concentrations and the DM content as well as between the DON concentration and the CP content (Table 4).

As the concentrations of ZEA and OTA were very low, no correlations ($P > 0.05$) between these mycotoxins and the grain nutritive value were observed. Other research also supports a negative correlation between the $\text{AFL}_{\text{B1+B2+G1+G2}}$ and moisture content (Walker et al., 2018). However, more studies (Garcia-Cela et al., 2018; Kochiiieru et al., 2021; Janavičienė et al., 2022) were carried out using other types of grains and flours to

Table 3. Nutrient composition of maize grains after 3 and 6 months of storage at different storage conditions

	Moisture %	DM	CP	CA	CF	Starch	Crude fat
	% in DM						
At the beginning of the experiment	7.21	92.82	9.294	0.558	0.49	64.26	4.284
After 3 months at 4°C	7.74	92.26	9.19	0.50	0.32	64.85	4.42
After 3 months at 12°C	8.31	91.69	9.19	0.43	0.28	64.80	4.35
After 3 months at 20°C	4.95**	95.05**	8.82	0.78	0.11	67.88**	4.50
After 3 months in storage room	10.83***	89.17***	9.18	0.26	0.81	62.58	4.18
After 6 months at 4°C	6.50	93.50	9.36	0.67	0.18	64.28	4.42
After 6 months at 12°C	6.80	93.20	9.32	0.42	0.20	64.22	4.35
After 6 months at 20°C	3.24***	96.76***	8.81	0.78	0.11	68.86***	4.40
After 6 months in storage room	7.78	92.22	9.30	0.42	0.46	63.10	4.30

DM – dry matter, CP – crude protein, CA – crude ash, CF – crude fibre; significant difference compared with the value at the beginning of the experiment: * – $P \leq 0.05$, ** – $P \leq 0.01$, and *** – $P \leq 0.001$

Table 4. Correlations between mycotoxins concentration and nutrient composition

	AFL	ZEA	CIT	OTA	DON
Moisture	-0.388**	0.207	-0.414**	-0.166	-0.139
Dry matter (DM)	0.387**	-0.207	0.413**	0.166	0.142
Crude protein (CP)	-0.194	0.271	-0.164	-0.192	0.381**
Crude ash (CA)	0.225	0.289	0.089	0.105	0.164
Crude fibre (CF)	-0.209	0.344	-0.159	-0.146	0.062
Starch	0.123	-0.259	0.266	0.278	-0.204
Crude fat	0.195	-0.283	0.370*	0.281	-0.255

AFL – aflatoxins (B1+B2+G1+G2), ZEA – zearalenone, CIT – citrinin, OTA – ochratoxin A, DON – deoxynivalenol; significant at * – $P \leq 0.05$ and ** – $P \leq 0.01$

find out how the nutrient composition correlates with the mycotoxins concentration.

Conclusions

1. The duration of storage showed the greatest influence on the formation of aflatoxins (AFL_{B1+B2+G1+G2}) when an average concentration increased about 3 times after 6 months of storage, regardless of storage conditions.

2. The duration of storage had a significant effect on the citrinin (CIT) accumulation, as it was not detected in the maize grain samples at the beginning of the experiment; however, after 6 months of storage, the concentration ranged from 93 to 184 µg kg⁻¹, regardless of storage conditions.

3. There is no risk of an increase in the concentrations of deoxynivalenol (DON), zearalenone (ZEA), and ochratoxin A (OTA) in maize grains when stored well dried (up to 7% moisture content), regardless of storage conditions.

4. The nutrient composition after 6 months of storage was only different at 20°C temperature. The increase in starch content was accompanied by an increase in dry matter (DM) content.

5. Strong positive correlations were observed: as the concentrations of AFL_{B1+B2+G1+G2} and CIT increased, so did the DM content, while the crude protein content increased with increasing the DON concentration.

Received 09 09 2022

Accepted 20 10 2022

References

- Angelović M., Krištof K., Jobbágy J., Findura P., Križan M. 2018. The effect of conditions and storage time on course of moisture and temperature of maize grains. *BIO Web of Conferences*, 10: 07001
<https://doi.org/10.1051/bioconf/20181002001>
- Atanda S. A., Pessu P. O., Agoda S., Isong I. U., Adekalu O. A., Echendu M. A., Falade T. C. 2011. Fungi and mycotoxins in stored foods. *Academic Journals*, 5 (25): 4373–4381.
<https://doi.org/10.5897/AJMR11.487>
- Bolanos-Carriel C., Wegulo S. N., Hallen-Adams H., Baenziger S. P., Eskridge K. M., Funnell-Harris D., McMaster N., Schmale III D. G. 2020. Effects of field-applied fungicides, grain moisture, and time on deoxynivalenol during postharvest storage of winter wheat grain. *Canadian Journal of Plant Science*, 100 (3): 304–313.
<https://doi.org/10.1139/cjps-2019-0075>
- Bruce A. Y., Itefera I., Mueke J. 2018. Maize grain stored in hermetic bags: Effect of moisture and pest infestation on grain quality. *Journal of Food Quality*, 2018: 2515698.
<https://doi.org/10.1155/2018/2515698>
- Carbas B., Simões D., Soares A., Freitas A., Ferreira B., Carvalho A. R., Silva A. S., Pinto T., Diogo E., Andrade E., Brites C. 2021. Occurrence of *Fusarium* spp. in maize grain harvested in Portugal and accumulation of related mycotoxins during storage. *Foods*, 10: 375.
<https://doi.org/10.3390/foods10020375>
- EFSA. 2012. Scientific opinion on the risks for public and animal health related to the presence of citrinin in food and feed. *EFSA Journal*, 10 (3): 2605
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2605>
- Eskola M., Kos G., Elliott C. I., Hájšlová J., Mayar S., Krska R. 2020. Worldwide contamination of food-crops with mycotoxins: Validity of the widely cited 'FAO estimate' of 25%. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60 (16): 2773–2789
<https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1658570>
- European Commission. 2006 (a). Commission Recommendation (2006/576/EC) of 17 August 2006 on the presence of deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, T-2 and HT-2 and fumonisins in products intended for animal feeding (2006/576/EC). *Official Journal of the European Union*, L 229/7. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32006H0576>
- European Commission. 2006 (b). Commission Regulation (EC) No. 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, L364/5-24. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX:32006R1881>
- European Commission. 2007. Commission Regulation (EC) No 1126/2007 of 28 September 2007 amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards *Fusarium* toxins in maize and maize products. *Official Journal of the European Union*, L 255/14. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32007R1126>
- European Commission. 2009. Commission Regulation (EC) No 152/2009 of 27 January 2009 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of feed. *Official Journal of the European Union*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A02009R0152-20220628>
- Ezekiel C. N., Ayeni K. I., Akinyemi M. O., Sulyok M., Oyedele O. A., Babalola D. A., Ogara I. M., Krska R. 2021. Dietary risk assessment and consumer awareness of mycotoxins among household consumers of cereals, nuts and legumes in North-Central Nigeria. *Toxins*, 13 (9): 635.
<https://doi.org/10.3390/toxins13090635>
- FAO. 2020. Food safety and quality series No. 8. Climate change: Unpacking the burden on food safety, 79 p.
<https://doi.org/10.4060/ca8185en>
- Gaël Y. V., Biego G. H., Constant K. K., Leonce N. G., Coulbaly A. 2020. Evolution of mycotoxins during maize grains storage in triple bags containing plants biopesticides (*Lippia multiflora* and *Hyptis suaveolens*). *Asian Food Science Journal*, 17 (3): 22–33
<https://doi.org/10.9734/afsj/2020/v17i330193>
- García-Cela E., Kiaris E., Sulyok M., Medina A., Magan N. 2018. *Fusarium graminearum* in stored wheat: Use of CO₂ production to quantify dry matter losses and relate this to relative risks of zearalenone contamination under interacting environmental conditions. *Toxins*, 10 (2): 86.
<https://doi.org/10.3390/toxins10020086>
- Hakala K., Hannukkala A. O., Huusela-Verstoka E., Jalli M., Peltonen-Sainio P. 2011. Pest and diseases in a changing climate: a major challenge for Finnish crop production. *Agricultural and Food Science*, 20 (1): 3–14
<https://doi.org/10.2137/145960611795163042>
- He Y., Cox R. J. 2016. The molecular steps of citrinin biosynthesis in fungi. *Chemical Science*, 7: 2119–2127.
<https://doi.org/10.1039/C5SC04027B>
- Janavičienė S., Mankevičienė A., Kocheru Y., Venslovas E. 2022. T-2 and HT-2 toxins in harvested oat grains and their prevalence in whole grain flour during storage. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 39 (7): 1284–1295.
<https://doi.org/10.1080/19440049.2022.2063392>
- Ji X., Xiao Y., Wang W., Lyu W., Wang X., Li Y., Deng T., Yang H. 2022. Mycotoxins in cereal-based infant foods marketed in China: Occurrence and risk assessment. *Food Control*, 138: 108998
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108998>
- Kamle M., Mahato D., Gupta A., Pandhi S., Sharma N., Sharma B., Mishra S., Arora S., Selvakumar R., Saurabh V., Dhakane-Lad J., Kumar M., Barua S., Kumar A., Gamlath S., Kumar P. 2022. Citrinin mycotoxin contamination in

- food and feed: Impact on agriculture, human health, and detection and management strategies. *Toxins*, 14 (2): 85. <https://doi.org/10.3390/toxins14020085>
- Khodaie D., Javanmardi F., Khaneghah A. M. 2021. The global overview of the occurrence of mycotoxins in cereals: a three-year survey. *Current Opinion in Food Science*, 39: 36–42. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.12.012>
- Kochiieru Y., Mankevičienė A., Cesevičienė J., Semaskienė R., Ramanauskienė J., Gorash A., Janavičienė S., Venslovas E. 2021. The impact of harvesting time on *Fusarium* mycotoxins in spring wheat grain and their interaction with grain quality. *Agronomy*, 11 (4): 642. <https://doi.org/10.3390/agronomy11040642>
- Kowalska G., Kowalski R. 2021. Occurrence of mycotoxins in selected agricultural and commercial products available in eastern Poland. *Open Chemistry*, 19 (1): 653–664. <https://doi.org/10.1515/chem-2021-0056>
- Kumar D., Jhariya A. 2013. Nutritional, medicinal and economical importance of corn: A mini review. *Research Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2 (7): 7–8. <http://www.isca.in/IJPS/Archive/v2/i7/2.ISCA-RJPcS-2013-029.pdf>
- Li Z., Mao Y., Teng J., Xia N., Huang L., Wei B., Chen Q. 2020. Evaluation of mycoflora and citrinin occurrence in Chinese Lúpao tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68 (43): 12116–12123. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c04522>
- Lu X., Chen J., Zheng M., Guo J., Qi J., Chen Y., Miao S., Zheng B. 2019. Effect of high-intensity ultrasound irradiation on the stability and structural features of coconut-grain milk composite systems utilizing maize kernels and starch with different amylose contents. *Ultrasonics Sonochemistry*, 55: 135–148. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.03.003>
- Micdaner T., Juroszek P. 2021 (a). Climate change will influence disease resistance breeding in wheat in Northwestern Europe. *Theoretical and Applied Genetics*, 134: 1771–1785. <https://doi.org/10.1007/s00122-021-03807-0>
- Micdaner T., Juroszek P. 2021 (b). Global warming and increasing maize cultivation demand comprehensive efforts in disease and insect resistance breeding in north-western Europe. *Plant Pathology*, 70 (5): 1032–1046. <https://doi.org/10.1111/ppa.13365>
- Muga F. C., Marenia M. O., Workneh T. S. 2019. Effect of temperature, relative humidity and moisture on aflatoxin contamination of stored maize kernels. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 25 (2): 271–277. <https://www.agrojournal.org/25/02-07.pdf>
- OECD/FAO. 2019. OECD-FAO Agricultural Outlook 2019–2028. Paris/Food and Agriculture Organization of the United Nations. OECD Publishing, 127 p. <http://www.fao.org/3/ca4076en/ca4076en.pdf>
- Official Statistics Portal. 2022. Harvest of agricultural crops. <https://osp.stat.gov.lt/statistiniu-rodikliu-analize/>
- Pei P., Xiong K., Wang X., Sun B., Zhao Z., Zhang X., Yu J. 2022. Predictive growth kinetic parameters and modelled probabilities of deoxynivalenol production by *Fusarium graminearum* on wheat during simulated storing conditions. *Journal of Applied Microbiology*, 133 (2): 349–361. <https://doi.org/10.1111/jam.15557>
- Perrone G., Ferrara M., Medina A., Pascale M., Magan N. 2020. Toxicogenic fungi and mycotoxins in a climate change scenario: Ecology, genomics, distribution, prediction and prevention of the risk. *Microorganisms*, 8 (10): 1496. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101496>
- Phokane S., Flett B. C., Ncube E., Rheeder J. P., Rose L. J. 2019. Agricultural practices and their potential role in mycotoxin contamination of maize and groundnut subsistence farming. *South African Journal of Science*, 115 (9–10): 6221. <https://doi.org/10.17159/sajs.2019/6221>
- Reinholds I., Jansons M., Fedorenko D., Pugajeva I., Zute S., Barkiene E., Bartkevics V. 2021. Mycotoxins in cereals and pulses harvested in Latvia by nanoLC-Orbitrap MS. *Food Additives and Contaminants: Part B*, 14 (7): 115–123. <https://doi.org/10.1080/19393210.2021.1892204>
- Sasamalo M. M., Mugula J. K., Nyangi C. J. 2018. Aflatoxins contamination of maize at harvest and during storage in Dodoma, Tanzania. *International Journal of Innovative Research and Development*, 7 (6): 11–15. <https://www.researchgate.net/publication/326287724>
- Walker S., Jaime R., Kagot V., Probst C. 2018. Comparative effects of hermetic and traditional storage devices on maize grain: Mycotoxin development, insect infestation and grain quality. *Journal of Stored Products Research*, 77: 34–44. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2018.02.002>
- Worku A. F., Abera M., Kalsa K. K., Subramanyam B., Habtu N. G. 2019. Occurrence of mycotoxins in stored maize in Ethiopia. *Ethiopian Journal of Agricultural Sciences*, 29 (2): 31–43. <https://www.ajol.info/index.php/ejas/article/view/186709>
- Zhang H., Sun J., Zhang Y., Lu M., Sun L., Li W., Hu X., Wang B. 2016. Retention of deoxynivalenol and its derivatives during storage of wheat grain and flour. *Food Control*, 65: 177–181. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.12.019>
- Zingales V., Taroncher M., Martino P. A., Ruiz M.-J., Caloni F. 2022. Climate change and effects on molds and mycotoxins. *Toxins*, 14 (7): 445. <https://doi.org/10.3390/toxins14070445>

Laikymo sąlygų įtaka mikotoksinų kiekiui kukurūzų grūduose ir jų mitybinės vertės kitimui

E. Venslovas, A. Mankevičienė, Y. Kochiieru, L. Merkevičiūtė-Venslovė, S. Janavičienė

Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centras

Santrauka

Tyrimo tikslas – nustatyti, kaip citrinino (CIT), aflatoksinų (AFL_{B1+B2+G1+G2}), ochratoksino A, zearalenono (ZEA) ir deoksinivalenolio (DON) koncentracijos kinta skirtingomis kukurūzų grūdų laikymo sąlygomis ir kaip tai paveikia grūdų kokybę. Mikotoksinų AFL_{B1+B2+G1+G2}, CIT, DON, ZEA bei OTA ir grūdų kokybės: sausųjų medžiagų, žalių baltymų, žalių pelenų, žalios ląstelienos, žalių riebalų bei krakmolo, analizės buvo atliktos eksperimento pradžioje ir po 3 bei 6 mėnesių laikymo.

Tyrimo rezultatai parodė, kad didžiausią įtaką AFL_{B1+B2+G1+G2} formavimuisi turėjo laikymo trukmė – po 6 mėnesių laikymo, nepriklausomai nuo laikymo sąlygų, jo vidutinė koncentracija padidėjo maždaug tris kartus. Taip pat laikymo trukmė turėjo reikšmingos įtakos CIT kaupimuisi, nes prieš eksperimentą kukurūzų grūdų mėginiuose jo nebuvo aptikta, o po 6 mėnesių laikymo jo koncentracija svyravo nuo 93 iki 184 μg kg⁻¹. Sandėliuojant gerai (iki 7 % drėgno) išdžiovinutus kukurūzų grūdus nėra pavojaus dėl DON, ZEA ir OTA koncentracijų padidėjimo juose. DON koncentracija po 6 mėnesių laikymo 12 ir 20 °C temperatūroje sandėlyje sumažėjo maždaug du kartus, o grūdus laikant 4° C temperatūroje po 3 mėnesių taip pat sumažėjo, tačiau po 6 mėnesių padidėjo iki pradinės koncentracijos. Viso eksperimento laikotarpiu ZEA ir OTA koncentracijos buvo šiek tiek didesnės už žemiausią aptikimo ribą arba jos nesiekė. Grūdų mitybinė vertė po 6 mėnesių laikymo skyrėsi tik juos laikant 20° C temperatūroje. Mėginius laikant šiomis sąlygomis, sausųjų medžiagų ir krakmolo kiekis reikšmingai padidėjo. Nustatytos stiprios teigiamos koreliacijos: padidėjus AFL_{B1+B2+G1+G2} ir CIT koncentracijai, didėjo ir sausųjų medžiagų kiekis, o žalių baltymų kiekis didėjo didėjant DON koncentracijai.

Reikšminiai žodžiai: aflatoksinai (B1+B2+G1+G2), citrininas, deoksinivalenolis, zearalenonas, ochratoksinas A, kukurūzų grūdai.

Article

The Effect of *Ustilago maydis* and Delayed Harvesting on A- and B-Type Trichothecene Concentrations in Maize Grain

Eimantas Venslovas ^{1,*}, Audronė Mankevičienė ¹, Yuliia Kochiiuru ¹, Sigita Janavičienė ¹,
Zenonas Dabkevičius ¹, Vadims Bartkevičs ², Zane Bērziņa ² and Romans Pavlenko ²

¹ Lithuanian Research Centre for Agriculture and Forestry, Instituto al. 1, LT-58344 Akademija, Lithuania

² Institute of Food Safety, Animal Health and Environment "BIOR", Leļupes Iela 3, LV-1076 Riga, Latvia

* Correspondence: eimantas.venslovas@ammc.lt

Abstract: The aim of this study was to investigate whether, in the context of a higher incidence of *Ustilago maydis* and *Fusarium* spp. at optimal and delayed harvest times, a higher incidence of mycotoxin contamination in maize grains could be expected. The field experiment was carried out at the Lithuanian Research Centre for Agriculture and Forestry experimental fields over three consecutive years (2020–2022). Two maize hybrids (*Duxxbury* and *Lapriora*) with different FAO numbers were used. The experimental design in the field was a randomized complete block design. Harvesting took place at three different times: first at physiological maturity, and then 10 (±2) and 20 (±2) days after the first harvest. Each hybrid had four repetitions at different harvest times. The *U. maydis* infection was only detected in 2021 and after the first harvest cobs were further divided into four different groups with four repetitions: healthy cobs, cobs visually infected with *Fusarium* spp., cobs visually infected with common smut, and cobs visually infected with both pathogens. No *U. maydis*-damaged maize cobs were found in 2020 and 2022. The levels of *Fusarium* microscopic fungi in maize grains were also from 4 to 16 times higher in 2021 than in 2020 and 2022. Harvest delays in 2020 led to a significant deoxynivalenol concentration increase in the *Duxxbury* hybrid and an HT-2 concentration increase in the *Lapriora* hybrid. In 2021, deoxynivalenol, 3-acetyl-deoxynivalenol, 15-acetyl-deoxynivalenol, and HT-2 concentrations significantly rose in both hybrids, but the T-2 concentration significantly increased only in the *Lapriora* hybrid. Deoxynivalenol concentrations were, respectively, 110 and 14.6 times higher than in cobs only infected with *Fusarium* spp. or *U. maydis*. Concentrations of 15-acetyl-deoxynivalenol were, respectively, 60, 67, and 43 times higher than in asymptomatic cobs and cobs only infected with *Fusarium* spp. or *U. maydis*. Cobs contaminated with both pathogens also had higher concentrations of 3-acetyl-deoxynivalenol. T-2 and HT-2 were detected in maize grains harvested from cobs infected only with *Fusarium* spp. The presence of *U. maydis* and *Fusarium* fungi in maize cobs, along with harvest delays, led to significant increases in mycotoxin concentrations, highlighting the importance of timely harvesting and pathogen management to mitigate mycotoxin contamination in maize grains.

Keywords: common smut; *Fusarium* spp.; field experiment; maize hybrids; deoxynivalenol; 3-acetyl-deoxynivalenol; 15-acetyl-deoxynivalenol; T-2 toxin; HT-2 toxin



Citation: Venslovas, E.; Mankevičienė, A.; Kochiiuru, Y.; Janavičienė, S.; Dabkevičius, Z.; Bartkevičs, V.; Bērziņa, Z.; Pavlenko, R. The Effect of *Ustilago maydis* and Delayed Harvesting on A- and B-Type Trichothecene Concentrations in Maize Grain. *J. Fungi* **2023**, *9*, 794. <https://doi.org/10.3390/jof9080794>

Academic Editors: Martin Gustavo Theumer and José Sebastián Dambolena

Received: 12 June 2023

Revised: 18 July 2023

Accepted: 26 July 2023

Published: 28 July 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Maize (*Zea mays L.*) is one of the most adaptable crops, able to thrive in a variety of environments, and used for human food and animal feed [1]. According to recent research, maize is the world's second most extensively farmed crop after wheat [2]. Globally, it is expected for grain production to increase over the next decade by 12%, and almost half of this increase will come from maize. The global grain consumption for feed is also expected to be dominated by maize [3]. Maize yields in Europe, and especially in northern Europe, are expected to grow even further, despite climate change [4]. Over the last decade, maize yields in Lithuania have already gone up from 78.8 to 99.8 thousand tons [5].

Common smut is caused by the basidiomycete fungus, *Ustilago maydis* [6]. It is a common biotrophic phytopathogenic fungus, which specifically infects maize organs by forming galls filled with teliospores [7]. Unfavorable meteorological conditions, such as high temperatures and droughts in the period of pollen scattering and filament spreading, have an impact on the spread of common smut. The disease is also more intense when young tissue is damaged by mechanical damage, wind, or hail [8,9]. This disease can impede plant development and diminish production, resulting in economic losses of up to 10% [6,7].

Considering the varying degrees of resistance exhibited among different maize hybrids, it is recommended to prioritize the selection of less susceptible hybrids to effectively protect the crop [10]. Resistance to *U. maydis* is believed to be a quantitative trait influenced by multiple minor gene effects. However, the specific genes and intricate mechanisms underlying maize resistance to *U. maydis* remain largely uncharacterized [11]. Hence, considerable efforts are being devoted to the development of novel hybrids that exhibit enhanced resilience, while also recognizing the importance of identifying existing hybrids that already demonstrate higher levels of resistance [12].

U. maydis does not produce dangerous metabolites; however, smut galls on maize cobs rupture the husks and offer a path for other fungi to infect exposed, unsmutted kernels [9,13]. More recent studies have reported that maize smut galls can also be colonized by mycotoxigenic fungi and contaminated with mycotoxins [14]. Other researchers claim that mycotoxins can also be detected in varying amounts in canned smut galls [15]. However, in some countries, such as Mexico, it is considered a delicacy and an important protein (~12%) source that has several names: “maize mushroom”, “corn truffle”, “cuitlachoche”, and “huitlacoche” [16,17].

One of the most important mycotoxin producers is *Fusarium* fungi. Species such as *F. graminearum* and *F. culmorum* mainly produce type B trichothecenes deoxynivalenol (DON), 3-acetyl-deoxynivalenol (3ADON), and 15-acetyl-deoxynivalenol (15ADON). Species such as *F. langsethiae*, *F. poae*, *F. equiseti*, and *F. sporotrichioides* mainly produce type A trichothecenes T-2, HT-2 [18,19]. Research shows that DON can be detected in almost half of the samples tested, and maize is among the crops with the highest concentrations of DON. More data should also be collected on 3ADON and 15ADON to better characterize their potential contribution to the overall impact of DON [20]. Further collection of analytical data on T-2 and HT-2 in relevant food and feed commodities, with particular focus on analyzing both individual toxins in the same sample, is also encouraged [21].

Grain can be influenced by unfavorable environmental conditions (temperature, humidity, drought, and rainfall) at any stage of the production process: pre-harvest, at harvest, and during storage [22,23]. Higher precipitation and lower temperatures before harvest and the delayed harvest of maize in different climate zones than ours have been observed to result in higher levels of *Fusarium* spp. and elevated mycotoxin contamination [24–26]. However, there is still a lack of information about the impact of delayed harvest time on maize grain infestation in our region.

The consumption of grains that are contaminated with high levels of mycotoxins can cause chronic, acute illness or even death in both humans and animals [27]. The European Commission has therefore set maximum limits for certain mycotoxins in food and feed [28–30]. As heavily infested grains are unsuitable for consumption and the detoxification/decontamination of such grains is a global problem, both practically and scientifically, it can also lead to serious economic losses [31]. It is therefore very important to continuously monitor, assess, and avoid conditions that may increase mycotoxin concentrations [19].

The fast expansion of maize farming areas, the use of ineffective crop rotation, and the global warming environment have all contributed to a rise in the occurrence of *Fusarium* spp. and common smut (*U. maydis*) [32]. Therefore, the aim of this study was to investigate whether, in the context of a higher incidence of common smut and *Fusarium* spp. at optimal and delayed harvest times, a higher incidence of mycotoxin contamination in maize grains is expected.

2. Materials and Methods

2.1. Field Trial Experimental Design

The research was carried out in the experimental fields of the Lithuanian Research Centre for Agriculture and Forestry between 2020 and 2022. The experimental design in the field was a randomized complete block design. Two corn hybrids, *Lapriora* (FAO 190) and *Duxxbury* (FAO 170), for three different planned harvest times were sown. Each treatment was replicated in four blocks (twenty-four blocks in total). To control weeds, maize was sprayed with herbicide ESTET® 600 EC (active substance 2.4 D acid 600 g L⁻¹) 0.6 L ha⁻¹ one month after the seeding and repeatedly after two weeks with Nicogan® (active substance nicosulfuron 40g L⁻¹) 0.75 L ha⁻¹ (BBCH 13-19). No other plant protection products were used. The first harvest was carried out when the maize reached physiological maturity (BBCH 87). The second maize harvest took place 10 (±2) days and the third harvest took place 20 (±2) days after the first harvest. The corn cobs were harvested and shelled by hand. Grains were dried to a moisture content of around 13%, and some grains were milled using Ultra Centrifugal Mill ZM 200 (Retsch, Haan, Germany) with 0.8 mm sieve. The milled and whole grains were frozen in a freezer at −20 °C until further laboratory analyses.

2.2. Meteorology

In 2020, temperatures at the beginning of the maize growing season in June were above the long-term average (Figure 1a). However, temperatures were cooler during flowering compared to the other years in the study. The late summer and early autumn were warmer than usual. Precipitation at the beginning of the maize growing season was higher; however, during flowering, late summer and autumn rainfalls were lower than the long-term average (Figure 1b). The year of 2021 was exceptional, with temperatures well above the long-term average and very low precipitation at the beginning of the summer, as well as during flowering and silking of maize. The end of the growing season was much cooler and wetter compared to the 2020 and 2022 meteorological data. In 2022, the temperature at the beginning of the maize growing season was close to the long-term average, and the precipitation was higher compared to the other years in the study. The end of the summer was exceptionally warm and dry, and early autumn was also drier than usual.

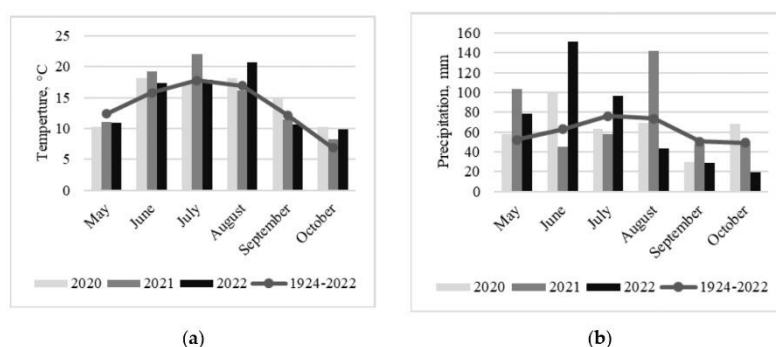


Figure 1. The average monthly air temperature (a) and precipitation (b) during the 2020–2022 maize growing seasons (May–October) and long-term average (1924–2022).

2.3. *Ustilago Maydis* Rating

Infection with *U. maydis* was assessed before the first harvest. *U. maydis* was evaluated by counting diseased and healthy maize cobs on five 2 m lengths of the row selected randomly for each hybrid [33]. During the whole study period, *U. maydis* infection was only noticed in 2021, and in turn, in 2020 and 2022, no maize cobs were infected. Therefore, in 2021, the first harvest cobs were further divided into four different groups: healthy cobs,

cobs visually infected with *Fusarium* spp., cobs visually infected with common smut, and cobs visually infected with both pathogens. Cobs visually infected with common smut had tumor-like galls, and cobs infected with *Fusarium* spp. had white to pink, salmon-colored, cottony mold on multiple grains. Each group had four replicates; each replicate was prepared in two repetitions. Grains were dried and milled, and mycotoxin analyses were carried out.

2.4. *Fusarium* spp. Rating

An agar plate method was used for the estimation of internal grain infection. The grain surface was sterilized for 3 min in 1% NaOCl solution, then 100 grains per sample were plated in Petri dishes with a potato dextrose agar (PDA) and incubated for 7 days at 26 ± 2 °C in the dark [34]. The overgrown *Fusarium* colonies were isolated and purified. To identify the colonies, the manuals of Nelson et al. [35] and Leslie et al. [36] were used. An optical microscope Nikon Eclipse E200 (Nikon, Tokyo, Japan) was used to identify the *Fusarium* spp. fungus, and the contaminated grains were calculated in percent (0% represents all healthy grains; 100% represents all infected grains).

2.5. Mycotoxin Analyses

In 2020 and 2021, for the sample clean-up step and dilution (in case of high concentrations), Vicam DONtest™ WB and T-2/HT-2™ LC immunoaffinity columns (Milford, MA, USA) were used, according to the manufacturer's procedures. DON test antibodies cross-react with 3ADON and 15ADON and succeed in retaining DON and the two other conjugates with good recoveries [37]. Therefore, the DONtest™ WB columns were also used to determine 3ADON and 15ADON.

The mycotoxin analyses were carried out using Shimadzu (Kyoto, Japan) high-performance liquid chromatography (HPLC) system. The system consists of an autosampler SIL-20A, a degasser DCU-20A5, a LC20 AT pump equipped with a FCV-10AL quaternary valve, a degasser DCU-20A5, a column oven CTO-20A equipped with a YMC-Pack Pro C18, (150 mm × 4.0 mm, 3 μm) column, an FLD detector, and a UV detector (Shimadzu). Data were evaluated using the computer program LCsolution LC/GC, version 5.42 (Shimadzu).

The quantitation of DON, 3ADON, and 15ADON in the sample was performed by measuring the peak area at DON and its derivatives' retention time and comparing it with the standard curves. For DON and 3ADON, calibration curve standard solutions were prepared with concentrations of 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 3.125, and 5 μg mL⁻¹, for 15ADON, concentrations of 0.1, 1, 3.4, 5, 10, 34, and 50 μg mL⁻¹, and for T-2 and HT-2, concentrations of 0.01, 0.05, 0.1, 0.25, and 0.5 μg mL⁻¹. Coefficient of determination (r^2) was not less than 0.999 in all cases. The lower limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) in ng g⁻¹ were calculated for DON (LOD = 37, LOQ = 112), 3ADON (LOD = 19, LOQ = 64), 15ADON (LOD = 19, LOQ = 63), T-2 (LOD = 15, LOQ = 50), and HT-2 (LOD = 19, LOQ = 62).

Grain samples in 2022 were analyzed using the instrumental method based on HPLC coupled to tandem quadrupole mass spectrometry (MS/MS) [38]. The mycotoxin analyses in 2022 were carried out using UltiMate 3000 HPLC system (Waltham, MA, USA) coupled with Thermo TSQ Quantiva triple quadrupole mass spectrometer (Waltham, MA, USA). Positive and negative ion modes were used to monitor ions, and selected reaction monitoring mode was used for the mass analysis. Xcalibur™ and TraceFinder software were used to process the data.

For DON, calibration curve standards with concentrations of 10, 50, 100, 250, and 500 ng g⁻¹, and for 3ADON, 15ADON, T-2, and HT-2, concentrations of 10, 20, 50, 100, and 200 ng g⁻¹ were used. The coefficient of determination (r^2) was not less than 0.999 in all cases. The LOD and LOQ in ng g⁻¹ were calculated for DON (LOD = 48; LOQ = 144); sum of 3ADON and 15ADON (LOD = 17; LOQ = 51), T-2 (LOD = 17; LOQ = 52), and HT-2 (LOD = 10; LOQ = 31).

The performance characteristics of both analytical procedures in terms of sensitivity, precision, and accuracy were similar, as the presented data reveals that methods offer very similar LOD and LOQ values.

2.6. Statistical Analysis

Statistical analysis was conducted using SPSS Statistics, version 25 (IBM Inc., Armonk, NY, USA). To assess the assumptions of homoscedasticity, Levene's test was applied, and data normality was checked using the Shapiro–Wilk test. These tests confirmed that the data met the assumptions required for conducting ANOVA, ensuring the validity and reliability of our statistical analysis. Significant differences of *Fusarium* spp. infection and mycotoxin concentrations between treatments were calculated using one-way ANOVA (Duncan's post hoc test). Significant differences of common smut infection between maize hybrids were calculated using T-test. Pearson's correlation coefficient was used to determine positive and negative correlations and their significance between *Fusarium* species and mycotoxins.

3. Results

Common smut and *Fusarium* infection were observed in maize cobs and grains in Lithuania in each of the years from 2020 to 2022. The study showed that in 2021, the meteorological conditions were much more favorable for the spread of both *Fusarium* fungi and *U. maydis*.

The *U. maydis* infection was only detected in 2021, and no damaged maize cobs were found in 2020 and 2022 ($p < 0.001$). Differences between maize hybrids were observed in the year of disease incidence, and the *Duxxbury* hybrid had almost four times more smut-infected cobs than the *Lapriora* hybrid ($p < 0.001$). In 2021, the levels of *Fusarium* microscopic fungi in both hybrids were from 4 to 16 times higher than in 2020 and 2022 ($p < 0.001$) (Figure 2). In 2021 and 2022, it was observed that *Fusarium* microscopic fungi were approximately four times more abundant in the *Duxxbury* hybrid than in the *Lapriora* hybrid ($p < 0.01$); however, in 2020, no significant differences were observed between the hybrids.

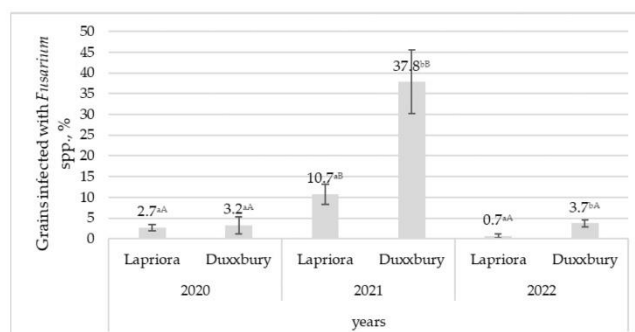


Figure 2. Percentage of grains infected with *Fusarium* spp. in *Lapriora* and *Duxxbury* maize hybrids over a three-year period (2020–2022). Note. Values with different lowercase and uppercase letters indicate significant differences among maize hybrids in different years for the same infection.

While examining the species composition of *Fusarium* fungi in maize hybrids at different harvest times, we observed differences in the diversity of microscopic fungi detected in maize grain (Figure 3). The lowest diversity of *Fusarium* fungi was found in the grains of the *Duxxbury* hybrid in 2020 and in the grains of both hybrids in 2022. The highest diversity was observed in the *Lapriora* hybrid in 2020 and both hybrids in 2021. In 2021, the number of infected grains in both hybrids was much higher compared to the results of the other two years. *Duxxbury* hybrid grains in 2021 were 12 and 10 times more infected than in

2020 and 2022, respectively, and *Lapriora* hybrid grains were 4 and 16 times more infected than in 2020 and 2022, respectively ($p < 0.001$). The microscopic fungi that dominated were *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. sporotrichioides*, *F. avenaceum*, and *F. verticillioides*. A statistically significant increase in total microscopic fungi was only observed in the third harvest of *Duxxbury* in 2021, when the amount of infected grain was found to be three times higher than in the first harvest and two times higher than in the second harvest ($p < 0.01$).

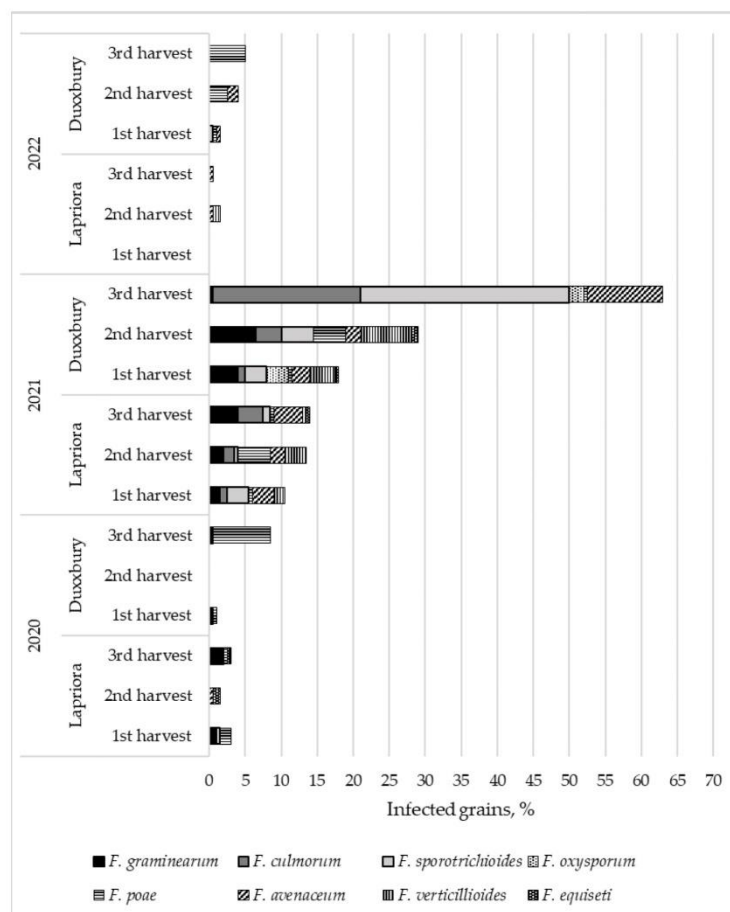


Figure 3. Variation in percentage of grains infected with different *Fusarium* species in two maize hybrids (*Lapriora* and *Duxxbury*) harvested at physiological maturity, then 10 (± 2) and 20 (± 2) days after the first harvest over a three-year period (2020–2022).

In 2020 and 2021, DON, T-2, and HT-2 toxins were detected in all maize grain samples, whereas in 2022, traces of DON and HT-2 toxins were detected in only 21% and 8% of samples (Table 1). 3ADON and 15ADON were not detected in 2020 and 2022; however, in 2021, 3ADON was found in 46% of grain samples and 15ADON was found in 75% of grain samples. Comparing the mycotoxin concentrations detected in maize grain between the years, it was observed that DON, 3ADON, and 15ADON concentrations in both hybrids ($p < 0.05$) and T-2 and HT-2 concentrations only in *Duxxbury* hybrid ($p < 0.001$) were significantly higher in 2021 than in 2020 and 2022. In the same year, differences between the

hybrids also became apparent. It was observed that the concentrations of DON, 3ADON, T-2, and HT-2 were 5 ($p < 0.01$), 6 ($p < 0.05$), 4 ($p < 0.05$), 26 ($p < 0.05$), and 15 ($p < 0.001$) times higher in the *Duxxbury* hybrid than in the *Lapriora* hybrid, respectively. With delayed harvesting, the concentrations were observed to increase or remain stable. Significant increases in concentrations are usually observed at the third harvest. In 2020, harvest delay led to a significant DON concentration increase in the *Duxxbury* hybrid and a HT-2 concentration increase in the *Lapriora* hybrid ($p < 0.05$). In 2021, a significant concentration-increasing tendency in delayed harvesting was observed in DON, 3ADON, 15ADON, and HT-2 concentrations in both hybrids ($p < 0.05$), while the T-2 concentration significantly increased only in the *Lapriora* hybrid ($p < 0.05$). In 2021, the DON concentration in 42% of samples and the T-2 and HT-2 concentration sums in 50% of samples were above the levels set by the European Commission for animal feed.

Table 1. A- and B-type trichothecenes concentration in *Lapriora* and *Duxxbury* maize hybrids harvested at physiological maturity, then 10 (± 2) and 20 (± 2) days after the first harvest over a three-year period (2020–2022).

Year	<i>Lapriora</i> Hybrid			<i>Duxxbury</i> Hybrid		
	First Harvest	Second Harvest	Third Harvest	First Harvest	Second Harvest	Third Harvest
DON						
2020	198 ^a	229.3 ^a	272.5 ^a	149.8 ^a	202.3 ^{ab}	232.5 ^b
2021	227 ^a	518 ^a	3481 ^b	1880 ^a	4456 ^a	15019 ^b
2022	13 ^a	<LOD	69 ^a	346 ^a	192 ^a	<LOD
3ADON						
2020	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
2021	<LOD	<LOD	64	31 ^a	40 ^a	322 ^b
15ADON						
2020	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
2021	<LOD	35 ^a	246 ^b	109 ^a	169 ^a	968 ^b
Sum of 3ADON and 15ADON						
2022	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
HT-2						
2020	49.9 ^a	34.8 ^a	101.9 ^b	50.2 ^a	52.6 ^a	41.2 ^a
2021	22.1 ^a	16.6 ^a	154.2 ^b	884 ^a	830.9 ^a	1196.8 ^b
2022	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
T-2						
2020	27.3 ^a	27.8 ^a	62.5 ^a	23.2 ^a	36.1 ^a	23.6 ^a
2021	24.6 ^a	16.3 ^a	174.4 ^b	1960.1 ^a	2098.5 ^a	1413.2 ^a
2022	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

Mycotoxin concentrations with different lowercase letters indicate significant differences among harvest times in the same maize hybrid and year.

Table 2. A- and B-type trichothecenes correlation with *Fusarium* spp. species in maize grains.

	DON	3ADON	15ADON	T-2	HT-2
<i>F. graminearum</i>	0.192	0.07	0.110	0.290 [*]	0.339 ^{**}
<i>F. culmorum</i>	0.731 ^{***}	0.809 ^{**}	0.831 ^{**}	0.161	0.365 ^{**}
<i>F. sporotrichioides</i>	0.559 ^{***}	0.333 ^{**}	0.358 ^{**}	0.272 [*]	0.445 ^{***}
<i>F. poae</i>	−0.063	−0.064	−0.064	−0.031	0.026

*— $p < 0.05$, **— $p < 0.01$, ***— $p < 0.001$.

Several positive correlations were observed between type A and B trichothecenes and *Fusarium* spp. fungi (Table 2). The levels of DON, 3ADON, and 15ADON indicated

the strongest positive correlations with *F. culmorum* and *F. sporotrichioides* ($p < 0.001$). The content of T-2 weakly but statistically significantly positively correlated with *F. graminearum* and *F. sporotrichioides* ($p < 0.05$). For HT-2, the strongest correlation was noticed with *F. sporotrichioides* ($p < 0.001$); it also strongly correlated with *F. graminearum* and *F. culmorum* ($p < 0.01$).

By analyzing cobs collected in 2021 and visually distributed by asymptomatic, infected with *U. maydis*, infected with *Fusarium* spp., and infected with both pathogens, it was determined that grains harvested from cobs infected with both had the highest DON, 3ADON, and 15ADON concentrations (Table 3). DON concentrations were, respectively, 110 and 14.6 times higher than in cobs that were only infected with *Fusarium* spp. or *U. maydis* ($p < 0.001$). 15ADON concentrations were, respectively, 60, 67, and 43 times higher than in asymptomatic cobs and cobs only infected with *Fusarium* spp. or *U. maydis* ($p < 0.001$). High concentrations of 3ADON were also detected in cobs contaminated with both pathogens, and some only *U. maydis*-infected cob samples had traces of up to 28 ng g⁻¹. Unlike the mycotoxins discussed above, higher concentrations of T-2 and HT-2 were detected in maize grains harvested from cobs infected only with *Fusarium* spp. However, concentrations of T-2 and HT-2 up to 23 and 24 ng g⁻¹ were detected in grains harvested from cobs contaminated only with *U. maydis*. Moreover, 50% of the grain samples harvested from cobs infected with both pathogens also had T-2 and HT-2 concentrations of up to 24 and 57 ng g⁻¹, respectively.

Table 3. A- and B-type trichothecenes concentration in maize grains harvested from asymptomatic cobs and from visually infected with *U. maydis*, *Fusarium* spp., or both pathogens.

	Infection	N	Positive Samples, %	Mean	SE	95% Confidence Interval for Mean		Min.	Max.
						Lower Bound	Upper Bound		
DON	Asymptomatic	8	0%	<LOD	NA	NA	NA	<LOD	<LOD
	<i>Ustilago maydis</i>	8	100%	285 ^b	73.3	128.6	440.9	92	896
	<i>Fusarium</i> spp.	8	50%	<LOD	NA	NA	NA	<LOD	88
	Both pathogens	8	100%	4175 ^c	32.4	4097.8	4251.2	4060	4280
3ADON	Asymptomatic	8	0%	<LOD	NA	NA	NA	<LOD	<LOD
	<i>Ustilago maydis</i>	8	25%	<LOD	NA	NA	NA	<LOD	28
	<i>Fusarium</i> spp.	8	0%	<LOD	NA	NA	NA	<LOD	<LOD
	Both pathogens	8	100%	993	124.6	697.8	1287.2	652	1344
15ADON	Asymptomatic	8	100%	49 ^a	6.4	34.0	64.0	20	76
	<i>Ustilago maydis</i>	8	50%	44 ^a	11.6	19.4	68.6	<LOD	120
	<i>Fusarium</i> spp.	8	100%	68 ^a	8.5	47.9	88.1	40	96
	Both pathogens	8	100%	2929 ^b	381.3	2027.3	3830.7	1872	4028
T-2	Asymptomatic	8	0%	<LOD	NA	NA	NA	<LOD	<LOD
	<i>Ustilago maydis</i>	8	25%	<LOD	NA	NA	NA	<LOD	23
	<i>Fusarium</i> spp.	8	50%	132	47.0	21.0	243.2	<LOD	259
	Both pathogens	8	50%	<LOD	2.9	6.7	20.3	<LOD	24
HT-2	Asymptomatic	8	0%	<LOD	NA	NA	NA	<LOD	<LOD
	<i>Ustilago maydis</i>	8	19%	<LOD	NA	NA	NA	<LOD	24
	<i>Fusarium</i> spp.	8	50%	72 ^b	25.2	12.6	131.9	<LOD	143
	Both pathogens	8	50%	31 ^a	9.4	8.5	52.7	<LOD	57

LOD—limit of detection; NA—not available; mycotoxin concentrations, with different lowercase letters indicate significant differences among groups.

4. Discussion

In recent years, there has been an upward trend in the temperature background, sharp fluctuations in humidity, and the occurrence of extreme weather events. This stresses the plants and makes them less resistant to pests [39]. Any mechanical plant damage from pests, wind, or hail leads to a higher infestation with pathogens, and maize cobs are often infected when the spores of any pathogen are dispersed by wind onto the cob silks [9]. The most recent research, conducted in Poland and Ukraine, has also shown that warmer and

drier summers can lead to a higher incidence of *Fusarium* diseases and common smut [8,39]. Therefore, in 2021, dry, hot, and windy weather during the flowering and silking of maize may have led to higher infestations of *Fusarium* fungi and common smut.

Several methods can be employed to protect maize from pathogens. These include implementing crop rotation and tillage practices to reduce inoculum from plant debris, ensuring an appropriate planting population, maintaining optimal watering from silk to late-dough stage, and achieving optimal nitrogen fertilization [9]. Nevertheless, the degree of infection is also influenced by hybrid resistance to specific pathogens. The research conducted in Hungary indicated that common smut infection exhibits divergent effects on various maize hybrids, particularly emphasizing the higher impact on sweet maize hybrids [10]. Therefore, developing hybrids that are resistant to pathogens through breeding or genetic engineering is crucial to establishing a foundation for sustainable agriculture [12].

The findings from researchers in China suggest that the resistance to maize common smut may be attributed to intricate gene co-expression and metabolism networks associated with amino acids and reactive oxygen species metabolism [10]. German research demonstrates that breeding or engineering maize hybrids with enhanced resistance, specifically targeting the susceptibility factor lipoxygenase 3 through gene-editing techniques, holds promise for reducing disease symptoms and fungal infections caused by *U. maydis* [12]. The hybrids included in our study had not undergone previous testing for resistance to *U. maydis*. However, our findings indicate that the *Lapriora* hybrid exhibited greater resistance to this pathogen under the same growth conditions, highlighting its potential as a valuable candidate for further investigation and utilization in disease management strategies.

Maize grains can be infected with various species of *Fusarium* fungi, such as *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. langsethiae*, *F. poae*, *F. equiseti*, *F. sporotrichioides*, and *F. verticillioides* [18,19]. The studies conducted in Poland confirmed that *F. verticillioides*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. sporotrichioides*, and *F. poae* are among the most common *Fusarium* species in maize [40,41].

There is still a lack of information about the impact of a delayed harvest time on maize grain infestation in our region for mycotoxins. However, in sub-tropical/tropical Brazil and Uganda climate zones, it was noticed that delays in maize harvest can increase disease severity and *Fusarium* spp. and mycotoxins, such as total aflatoxin and fumonisin, contamination [24,25]. Research in Italy showed that higher precipitation and lower temperatures can lead to higher *Fusarium* incidence and mycotoxins such as DON, aflatoxin B1, fumonisin B1 + B2, and zearalenone [26]. A study in Serbia also showed that a wet and rainy climate in one of the study years led to an increase in the concentrations of DON and its derivatives [22]. Therefore, in 2021, more rainy and cooler weather in maize pre-harvest and harvest periods might have led to higher contamination of already heavily infested grain. As trichothecenes of types A and B are mainly produced by *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. langsethiae*, *F. poae*, and *F. sporotrichioides* [18,19]. Other researchers have also noticed a positive correlation between *F. culmorum*, *F. graminearum* occurrence, and type A and B trichothecenes concentrations and between *F. sporotrichioides* occurrence and T-2 and HT-2 concentrations in maize and other cereals [42–44].

There are still no studies on whether *Fusarium* fungi together with common smut infecting the same cob can lead to higher levels of trichothecenes in maize grain. However, research conducted in the USA has shown that grains harvested from common smut-infected cobs have 45 times higher aflatoxin and more than 5 times higher fumonisin concentrations than smut-free cobs [13]. As common smut does not produce mycotoxins, researchers found that *Aspergillus* spp. could grow on dried common smut galls, and there is a potential for aflatoxin contamination [31]. Mycotoxins such as aflatoxin, fumonisin, and DON can be found in commercially canned and fresh common smut galls [15]. Moreover, a loss of husk integrity caused by *U. maydis* makes the adjacent asymptomatic grains susceptible to attack by other fungi [13]. This may have led to a higher increase in the

concentrations of some trichothecenes in maize grains harvested from cobs infected by both *Fusarium* fungi and common smut.

5. Conclusions

This study reveals that the presence of *Ustilago maydis* and *Fusarium* fungi in maize cobs is associated with significant increases in mycotoxin concentrations in maize grains. Additionally, harvest time delays further exacerbate mycotoxin contamination. Dry and warm weather during the flowering and silking seasons of maize can lead to a significantly higher infestation rate with *Fusarium* fungi and common smut. If the environmental conditions are favorable for the infection of maize cobs, the delay in harvesting during rainy and cooler weather may increase the infestation and the concentrations of DON, 3ADON, 15ADON, T-2, and HT-2 mycotoxins. The infection of cobs with common smut may lead to easier infection with other mycotoxigenic fungi and a significant increase in DON, 3ADON, and 15ADON concentrations in maize grains harvested from such cobs. These findings underscore the critical importance of timely harvesting and implementing effective pathogen management strategies to mitigate mycotoxin contamination in maize production. Given the diversity and quantity of the mycotoxins detected in this study, it is appropriate to carry out a more extensive survey of maize crops where common smut and *Fusarium* fungi predominate.

Author Contributions: Conceptualization, E.V. and A.M.; methodology, E.V., A.M., Y.K., S.J., Z.D., V.B., Z.B. and R.P.; software, E.V., Z.B. and R.P.; validation, E.V., Y.K., S.J., V.B., Z.B. and R.P.; formal analysis, E.V.; investigation, E.V., A.M., Y.K. and S.J.; data curation, E.V. and A.M.; writing—original draft preparation, E.V.; writing—review and editing, E.V., A.M., Y.K., S.J., Z.D., V.B., Z.B. and R.P.; visualization, E.V. and A.M.; supervision, A.M., Z.D. and V.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Acknowledgments: This study was supported by the long-term research program ‘Harmful Organisms in Agro and Forest Ecosystems’ implemented by Lithuanian Research Centre for Agriculture and Forestry.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Suganya, A.; Saravanan, A.; Manivannan, N. Role of Zinc Nutrition for Increasing Zinc Availability, Uptake, Yield, and Quality of Maize (*Zea mays* L.) Grains: An Overview. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **2020**, *51*, 2001–2021. [CrossRef]
2. Erenstein, O.; Jaleta, M.; Sonder, K.; Mottaleb, K.; Prasanna, B.M. Global maize production, consumption and trade: Trends and R&D implications. *Food Secur.* **2022**, *14*, 1295–1319. [CrossRef]
3. OECD/FAO. *OECD-FAO Agricultural Outlook 2022–2031*; OECD Publishing: Paris, France, 2022. [CrossRef]
4. Parent, B.; Leclere, M.; Lacube, S.; Semenov, M.A.; Welcker, C.; Martre, P.; Tardieu, F. Maize yields over Europe may increase in spite of climate change, with an appropriate use of the genetic variability of flowering time. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2018**, *115*, 10642–10647. [CrossRef]
5. Official Statistics Portal. Available online: <https://osp.stat.gov.lt/statistiniu-rodikliu-analize#/> (accessed on 9 June 2023).
6. Frommer, D.; Veres, S.; Radócz, L. Susceptibility of stem infected sweet corn hybrids to common smut disease. *Acta Agrar. Debre-Ceniensis* **2018**, *74*, 55–57. [CrossRef]
7. Yu, C.; Qi, J.; Han, H.; Wang, P.; Liu, C. Progress in pathogenesis research of *Ustilago maydis*, and the metabolites involved along with their biosynthesis. *Mol. Plant Pathol.* **2023**, *24*, 495–509. [CrossRef]
8. Szulc, P.; Ambroży-Deregowska, K.; Mejza, I.; Kobus-Cisowska, J.; Ligaj, M.; Krauklis, D. The Role of Agrotechnical Factors in Shaping the Health of Maize Plants (*Zea mays* L.). *Pol. J. Environ. Stud.* **2021**, *30*, 863–869. [CrossRef]
9. Kelly, H.; McLaughlin, A.; Zuchelli, E. Diagnosis and Management of Ear Rot Disease. Available online: https://news.utcrops.com/wp-content/uploads/2022/08/Corn-Ear-Rots_Mycotoxins_ExtensionPub2022.pdf (accessed on 9 May 2023).

10. Radócz, L.; Szabó, A.; Tamás, A.; Illés, Á.; Bojtor, C.; Ragán, P.; Vad, A.; Széles, A.; Harsányi, E.; Radócz, L. Investigation of the Detectability of Corn Smut Fungus (*Ustilago maydis* DC. Corda) Infection Based on UAV Multispectral Technology. *Agronomy* **2023**, *13*, 1499. [\[CrossRef\]](#)
11. Ruan, X.; Ma, L.; Zhang, Y.; Wang, Q.; Gao, X. Dissection of the Complex Transcription and Metabolism Regulation Networks Associated with Maize Resistance to *Ustilago maydis*. *Genes* **2021**, *12*, 1789. [\[CrossRef\]](#)
12. Pathi, K.M.; Rink, P.; Budhagatapalli, N.; Betz, R.; Saado, I.; Hiekel, S.; Becker, M.; Djamei, A.; Kumlehn, J. Engineering Smut Resistance in Maize by Site-Directed Mutagenesis of LIPOXYGENASE 3. *Front. Plant Sci.* **2020**, *11*, 543895. [\[CrossRef\]](#)
13. Abbas, H.K.; Zablutowicz, R.M.; Shier, W.T.; Johnson, B.J.; Phillips, N.A.; Weaver, M.A.; Abel, C.A.; Bruns, H.A. Aflatoxin and Fumonisin in Corn (*Zea mays*) Infected by Common Smut *Ustilago maydis*. *Plant Dis.* **2015**, *99*, 1236–1240. [\[CrossRef\]](#)
14. Anggreini, R.A.; Rahmadhini, D.N. The Potential Nutrition and Food Safety of Corn Smut Galls. *J. Teknol. Pangan* **2020**, *14*, 44–51. [\[CrossRef\]](#)
15. Abbas, H.K.; Shier, W.T.; Plasencia, J.; Weaver, M.A.; Bellaloui, N.; Kotowicz, J.K.; Butler, A.M.; Accinelli, C.; de la Torre-Hernandez, M.E.; Zablutowicz, R.M. Mycotoxin contamination in corn smut (*Ustilago maydis*) galls in the field and in the commercial food products. *Food Control* **2017**, *71*, 57–63. [\[CrossRef\]](#)
16. Aydoğdu, M.; Göllükcü, M. Nutritional value of huitlacoche, maize mushroom caused by *Ustilago maydis*. *Food Sci. Technol.* **2017**, *37*, 531–535. [\[CrossRef\]](#)
17. Jing, L.; Lu, Y. Impact of Fungi on Agriculture Production, Productivity, and Sustainability. In *Fungal Diversity, Ecology and Control Management*; Springer Nature Singapore: Singapore, 2022; pp. 401–413. [\[CrossRef\]](#)
18. Bertero, A.; Moretti, A.; Spicer, L.J.; Caloni, F. *Fusarium* Molds and Mycotoxins: Potential Species-Specific Effects. *Toxins* **2018**, *10*, 244. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
19. Hajnal, E.J.; Kos, J.; Radić, B.; Anić, M.; Radović, R.; Kudumija, N.; Vulić, A.; Dekić, S.; Pleadin, J. Impact of Climate Changes on the Natural Prevalence of *Fusarium* Mycotoxins in Maize Harvested in Serbia and Croatia. *Foods* **2023**, *12*, 1002. [\[CrossRef\]](#)
20. European Food Safety Authority. Deoxynivalenol in food and feed: Occurrence and exposure. *EFSA J.* **2013**, *11*, 3379. [\[CrossRef\]](#)
21. European Food Safety Authority; Arcella, D.; Gergelova, P.; Innocenti, M.L.; Steinkellner, H. Human and animal dietary exposure to T-2 and HT-2 toxin. *EFSA J.* **2017**, *15*, 4972. [\[CrossRef\]](#)
22. Kos, J.; Hajnal, E.J.; Malachová, A.; Steiner, D.; Stranska, M.; Krska, R.; Poschmaier, B.; Sulyok, M. Mycotoxins in maize harvested in Republic of Serbia in the period 2012–2015. Part 1: Regulated mycotoxins and its derivatives. *Food Chem.* **2020**, *312*, 126034. [\[CrossRef\]](#)
23. Venslovas, E.; Mankevičienė, A.; Kochiūriū, Y.; Merkevičiūtė-Venslovė, L.; Janavičienė, S. Effect of storage conditions on the occurrence of mycotoxins and nutrient composition in maize grains. *Zemdirb.-Agric.* **2022**, *109*, 359–364. [\[CrossRef\]](#)
24. Kaaya, A.N.; Warren, H.L.; Kyamanywa, S.; Kyamuhangire, W. The effect of delayed harvest on moisture content, insect damage, moulds and aflatoxin contamination of maize in Mayuge district of Uganda. *J. Sci. Food Agric.* **2005**, *85*, 2595–2599. [\[CrossRef\]](#)
25. da Costa, R.V.; Queiroz, V.A.V.; Cota, L.V.; da Silva, D.D.; Lanza, F.E.; de Almeida, R.E.M.; Pereira, A.A.; Alves, R.R.; Campos, L.M. Delaying harvest for naturally drying maize grain increases the risk of kernel rot and fumonisin contamination. *Trop. Plant Pathol.* **2018**, *43*, 452–459. [\[CrossRef\]](#)
26. Leggieri, M.C.; Lanubile, A.; Dall'Asta, C.; Pietri, A.; Battilani, P. The impact of seasonal weather variation on mycotoxins: Maize crop in 2014 in northern Italy as a case study. *World Mycotoxin J.* **2020**, *13*, 25–36. [\[CrossRef\]](#)
27. Ekwoamadu, T.I.; Akinola, S.A.; Mwanza, M. *Fusarium* Mycotoxins, Their Metabolites (Free, Emerging, and Masked), Food Safety Concerns, and Health Impacts. *Environ. Res. Public Health* **2021**, *18*, 11741. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
28. European Commission. Commission Recommendation of 17 August 2006 on the prevention and reduction of *Fusarium* toxins in cereals and cereal products (Text with EEA relevance). *Off. J. Eur. Union* **2006**, *L 234*, 35–40.
29. European Commission. Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs (Text with EEA relevance). *Off. J. Eur. Union* **2006**, *L 364*, 5–24.
30. European Commission. 2013/165/EU: Commission recommendation of 27 March 2013 on the presence of T-2 and HT-2 toxin in cereals and cereal products. *Off. J. Eur. Union* **2013**, *L 91*, 12–15.
31. Agriopoulou, S.; Stamatelopoulou, E.; Varzakas, T. Advances in Occurrence, Importance, and Mycotoxin Control Strategies: Prevention and Detoxification in Foods. *Foods* **2020**, *9*, 137. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Czembor, E.; Frasiński, S. Polish maize elite inbred lines as a source of resistance for ear rot (*Fusarium* spp.) and common smut (*Ustilago maydis*). *Prog. Plant Prot.* **2018**, *58*, 22–27. [\[CrossRef\]](#)
33. European and Mediterranean Plant Protection Organization. PP 1/019 (5) Seed-borne cereal fungi. *EPPO Bull.* **2021**, *51*, 83–87. [\[CrossRef\]](#)
34. Mathur, S.B.; Kongsdal, O. *Common Laboratory Seed Health Testing Methods for Detecting Fungi*, 1st ed.; International Seed Testing Association (ISTA): Bassersdorf, Switzerland, 2003.
35. Nelson, P.E.; Toussoun, T.A.; Marasas, W.F.O. *Fusarium Species: An Illustrated Manual for Identification*; Pennsylvania State University Press: University Park, PA, USA, 1983.
36. Leslie, J.F.; Summerell, B.A. *The Fusarium Laboratory Manual*; Blackwell Publishing: Ames, IA, USA, 2006.
37. Gonsalves, C.; Storka, J. Cross-reactivity features of deoxynivalenol (DON)-targeted immunoaffinity columns aiming to achieve simultaneous analysis of DON and major conjugates in cereal samples. *Food Addit. Contam. Part A* **2016**, *33*, 1053–1062. [\[CrossRef\]](#)

38. Bartkienė, E.; Zokaitytė, E.; Lélé, V.; Starkutė, V.; Zavistanavičiūtė, P.; Klupsaitė, P.; Černauskas, D.; Ružauskas, M.; Bartkevičius, V.; Pugajeva, I.; et al. Combination of Extrusion and Fermentation with *Lactobacillus plantarum* and *L. uvarum* Strains for Improving the Safety Characteristics of Wheat Bran. *Toxins* **2021**, *13*, 163. [[PubMed](#)]
39. Pospelov, S.V.; Pospelova, G.D.; Nechiporenko, N.I.; Kovalenko, N.P.; Ochrimenko, V.V. Monitoring corn diseases in poltava region. *Bull. Poltava State Agrar. Acad.* **2021**, *3*, 37–44. [[CrossRef](#)]
40. Pfordt, A.; Romero, L.R.; Schiwiek, S.; Karlovsky, P.; von Tiedemann, A. Impact of Environmental Conditions and Agronomic Practices on the Prevalence of *Fusarium* Species Associated with Ear- and Stalk Rot in Maize. *Pathogens* **2020**, *9*, 236. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Czarnicka, D.; Czubacka, A.; Agacka-Moldoch, M.; Trojak-Goluch, A.; Ksieżak, J. The Occurrence of Fungal Diseases in Maize in Organic Farming Versus an Integrated Management System. *Agronomy* **2022**, *12*, 558. [[CrossRef](#)]
42. Vandicke, J.; de Visschere, K.; Croubels, S.; de Saeger, S.; Audenaert, K.; Haesaert, G. Mycotoxins in Flanders' Fields: Occurrence and Correlations with *Fusarium* Species in Whole-Plant Harvested Maize. *Microorganisms* **2019**, *7*, 571. [[CrossRef](#)]
43. Meyer, J.C.; Birr, T.; Hennies, I.; Wessels, D.; Schwarz, K. Reduction of deoxynivalenol, T-2 and HT-2 toxins and associated *Fusarium* species during commercial and laboratory de-hulling of milling oats. *Food Addit. Contam. Part A* **2022**, *39*, 1163–1183. [[CrossRef](#)]
44. Somma, S.; Scarpino, V.; Quaranta, F.; Logrieco, A.F.; Reyneri, A.; Blandino, M.; Morreti, A. Impact of fungicide application to control T-2 and HT-2 toxin contamination and related *Fusarium sporotrichioides* and *F. langsethiae* producing species in durum wheat. *Crop Prot.* **2022**, *159*, 106020. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

APIE AUTORIŲ

Vardas, pavardė

Eimantas Venslovas

Gimimo data

1994 m. sausio 6 d.

Išsilavinimas

2019–2023 m. Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centro, agronomijos krypties doktorantūros studentas.

2013–2019 m. veterinarijos gydytojo magistro kvalifikacinis laipsnis, LSMU LVA.

2009–2013 m. Panevėžio „Minties“ gimnazija.

2001–2009 m. Panevėžio „Šaltinio“ progimnazija.

Profesinė patirtis

Nuo 2019 m. spalio 1 d. LAMMC Žemdirbystės instituto Augalų patologijos ir apsaugos skyriaus jaunesnysis mokslo darbuotojas.

2019 m. vasaris – 2019 m. rugsėjis žemės ūkio bendrovės „Draugas“ veterinarijos gydytojas specialistas.

2018 m. gegužė – 2018 m. lapkritis žemės ūkio bendrovės „Draugas“ veterinarijos gydytojas-praktikantas.

SUMMARY

INTRODUCTION

Forage crops are one of the most abundant groups of valuable plants in Lithuania. Most of them grow in meadows and pastures, and many species are cultivated on farms involved in crop and livestock production. Various cereals are widely used as feed materials. However, wheat is the most analysed in terms of quality and safety (Janaviciene et al. 2018; Kochiieru 2020; Kochiieru et al. 2019; Mesterházy et al. 2011). Globally, maize (*Zea mays L*) is second in terms of importance (Erenstein et al. 2022), but in Lithuania it only started to be cultivated as a silage crop around 1960. As the climate warmed, cultivation techniques improved and breeders developed early maturing maize hybrids, it became possible to grow maize for grain, and maize for grain is now being grown in increasing numbers in Lithuania. Worldwide, maize is one of the most important cereals in the human and animal diet. It is a source of food, feed and processed products, and its nutritional value and quality are of great importance (Oliveira et al. 2017; Pereyra et al. 2011).

Barley (*Hordeum vulgare*) is the 4th most important crop in the world after wheat, maize and rice. In northern Europe, barley is frequently affected by ear fusariosis caused by *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. sporotrichioides*, *F. langsethiae*, *F. tricinctum* and *F. avenaceum* (Liatukas et al. 2019; Rodrigues et al. 2014). This severely compromises the quality of the grain and renders it unsuitable for either human consumption or animal feed (Hietaniemi et al. 2016).

Recently, mycotoxins have become a problem in countries with high maize and barley grain production due to climate change, and new approaches and prevention strategies are being developed to control them (Badr et al. 2016; Oliveira et al. 2017; Pereyra et al. 2011). Climate change may provide favourable conditions for the spread of *Aspergillus* and *Fusarium* fungi. The increasing accumulation of aflatoxins and deoxynivalenol by these fungi in final products poses a feed and food safety risk for both humans and animals. It is also predicted that the potential for *Fusarium* species to become more widespread in new environments will lead to the risk of accumulation of new mycotoxins in specific regions (Miedaner and Juroszek 2021; Moretti et al. 2019; Zingales et al. 2022).

Another significant issue is that the current European Union regulations for mycotoxin levels in animal feed are only guidelines (European Commission 2006; European Parliament 2002). Much of the research on mycotoxin contamination in animal feed focuses on finding the best ways to grow, harvest, process, and store crops to reduce the risk of mycotoxin contamination

(Jestoi et al. 2004; Kochiieru et al. 2021; Mannaa and Kim 2017; Sasamalo et al. 2018; Zhang et al. 2016). Sometimes, when researchers test individual mycotoxins, they observe different effects on mycotoxin levels. Even if they find a reduction in mycotoxin levels, there's a concern that mycotoxins might break down into other equally harmful substances (Agriopoulou et al. 2020; Karlovsky et al. 2016; P. Li et al. 2020). So, it's crucial to continuously watch for and assess conditions that could lead to higher mycotoxin levels and take steps to prevent them (Janić Hajnal et al. 2023).

Grain safety indicators include the level of undesirable impurities, contamination with pests and microscopic fungi, which produce mycotoxins that pose a risk to animal and human health and the environment (EFSA 2014; Janić Hajnal et al. 2017; Medina et al. 2015; Pleadin 2015). According to the scientists at the German Centre for Biological Research in Agriculture and Forestry, damage to grain by harmful organisms leads to significant yield losses, reduced grain quality, and as a result using such poor quality grain for animal feed (Beyer et al. 2005). In Lithuania, spring cereals have higher mycotoxin contamination and lower nutritional value than winter cereals (Mankevičienė et al. 2011), and are therefore less used for human consumption and constitute the largest percentage of feed rations. Worldwide, about 70% of common barley is used for feed and about 27% for brewing (Janssen et al. 2018). However more scientific information is available on the quality and safety of malting barley (Bauer et al. 2016; Běláková et al. 2014; Morcia et al. 2016; Piacentini et al. 2018; Varga et al. 2013). In Lithuania, the development of new spring barley varieties and their quality assessment also focuses on malting characteristics, the quality of the seed itself and the factors that determine it (Liatukas et al. 2019; Mašauskienė et al. 2007). A similar scenario is evident in the case of maize grain, where a significant portion is allocated for animal feed, although the primary focus remains on the food industry (Aoun et al. 2020; Lalage et al. 2023; Stathers et al. 2020).

Different countries around the world where maize is grown for cereals face different challenges (Bakoye et al. 2017; Hanvi et al. 2019), which are analysed from a national perspective, taking into account the specific needs of the countries. There are few researches on mycotoxin contamination of maize and barley grain used for feed in Lithuania, however mostly analysing the final product - the produced feed and its nutritional value (Baliukonienė et al. 2003; Mankevičienė and Auškalnienė 2004).

Research hypothesis

It is expected that delaying the harvest time and changing storage conditions will change the nutritional value of the grain of forage crops (maize, barley) and increase the spectrum of mycotoxins.

Research objective

The aim of this study was to evaluate the nutritional value and mycotoxin contamination of maize and barley grains and to investigate how natural and anthropogenic factors may influence nutritional value and safety parameters.

To achieve the research objective, the following tasks were set:

1. To identify the most important nutritional parameters of maize and spring barley grains and to assess the patterns of their changes depending on the growing conditions and the time of harvesting.
2. To determine mycotoxin contamination and how their concentrations change in spring barley grain as the harvest time is delayed.
3. To investigate the most commonly found mycotoxins in maize grain and how their concentrations change over time during harvest.
4. To investigate mycotoxin contamination in maize and spring barley grain delaying harvest time and determine if there is a correlation between mycotoxin concentrations and nutritional value parameters of the grain.
5. To determine changes in key nutritional parameters in stored maize grain and investigate the factors that contribute to the increase in mycotoxin concentrations.

Propositions to be defended:

1. The choice of spring barley variety and maize hybrid, the delay in harvesting time and the meteorological conditions during the growing season determine the changes in the nutritive value of maize and barley grain.
2. The increase in mycotoxin contamination of barley grain is due to the delay in harvesting time.
3. Mycotoxin contamination of maize grain depends on the choice of hybrid, and delaying the harvesting time leads to an increase in mycotoxin concentrations.
4. The duration and conditions of storage of maize grain have an influence on the changes in mycotoxin concentrations and nutritive value.

Relevance of the research work

Feed safety is a significant concern in the EU, but the raw materials used for compound feed production often lack good quality and may not meet the standards for food grains. European Union guidelines on mycotoxin contamination in animal feed, as outlined in the European Commission Recommendation (2006), are often disregarded. Consequently, insufficient attention is given to this issue. This is especially relevant for small farms that cultivate their own feed crops. Neglecting nutritional value and safety parameters of feed can lead to various animal diseases. There is a noticeable shortage of comprehensive studies on maize and barley grains in Lithuania and other countries worldwide, assessing both their nutritional value and mycotoxin contamination. Additionally, information on the safety compliance of feed grains with EU recommendations on mycotoxin levels is lacking. Specifically, there is limited scientific knowledge about how mycotoxin concentrations change when harvesting times are delayed due to natural conditions or other factors. Furthermore, the changes in mycotoxin concentrations and nutritional value during the storage of maize grain under our region's typical climatic conditions have been minimally explored. This research therefore provides new insights into the optimal timing of maize and barley grain harvesting and the optimal storage conditions for maize grain to avoid increased mycotoxin contamination.

Novelty of the research work

We conducted comprehensive studies on the nutritional value of commonly grown forage crops in Lithuania, including various barley and maize varieties and hybrids, as well as field pathogens and a wide range of mycotoxins. This represents the first such research and analysis conducted in Lithuania, with limited availability of similar studies in Europe and worldwide. In most cases, only individual indicators have been evaluated in a fragmented way, which does not always provide answers to the questions raised. Our analyses included deoxynivalenol and its derivatives, T-2 and HT-2 toxins, moniliformin, nivalenol, enniatins B, B1, A, and A1 in feed grains, contributing to the existing knowledge in this field. We also conducted a novel investigation into changes in citrinin concentrations during a storage experiment with maize grain grown in Lithuania. Additionally, our research explored correlations between grain nutritional value, mineral content, and mycotoxins, providing valuable new scientific insights.

Practical relevance

This study provides information on the prevalence of mycotoxins in barley and maize grains for feed in Lithuania. It helps to understand what conditions lead to higher mycotoxin concentrations when harvesting is delayed and how maize grain should be stored to reduce the

risk of mycotoxin contamination. The analyses could contribute to EU documents and recommendations related to feed quality and safety.

Approval of the research results

Two scientific articles related to the dissertation topic were published in citation indexed journals. Additionally, nine abstracts were published in conference proceedings, and the research findings were presented at nine scientific conferences – four with oral presentations and five with poster presentations. Furthermore, two recommendations based on the research outcomes were published.

Contents and volume of the dissertation

The dissertation, written in Lithuanian language, and includes a total of 144 pages. It consists an abstract, introduction, literature review, research methods, results and discussion, conclusions, references, a list of publications, recommendations, and copies of publications. The dissertation includes 24 tables, 16 figures, and cites a total of 185 references.

EXPERIMENTAL METHODS

Field experiments

A total of 142 samples of spring barley and maize grain were collected. Maize hybrids used for the experiment were *Lapriora* and *Duxxbury*, and the barley varieties were *Luokė* and *Laureate*. For each harvest, maize and barley grains were sown in 4 replicates in a random order for three different harvest times. Harvesting was conducted in three stages: maize at physiological maturity, barley at hard maturity, and 10 (± 2) days after the first harvest, as well as 20 (± 2) days after the first harvest.

Laboratory experiments

The study was carried out on the basis of the experimental design shown in Figure 1. The laboratory analyses were divided into 3 stages: nutritional value analyses, mycotoxin analyses, and storage experiment.

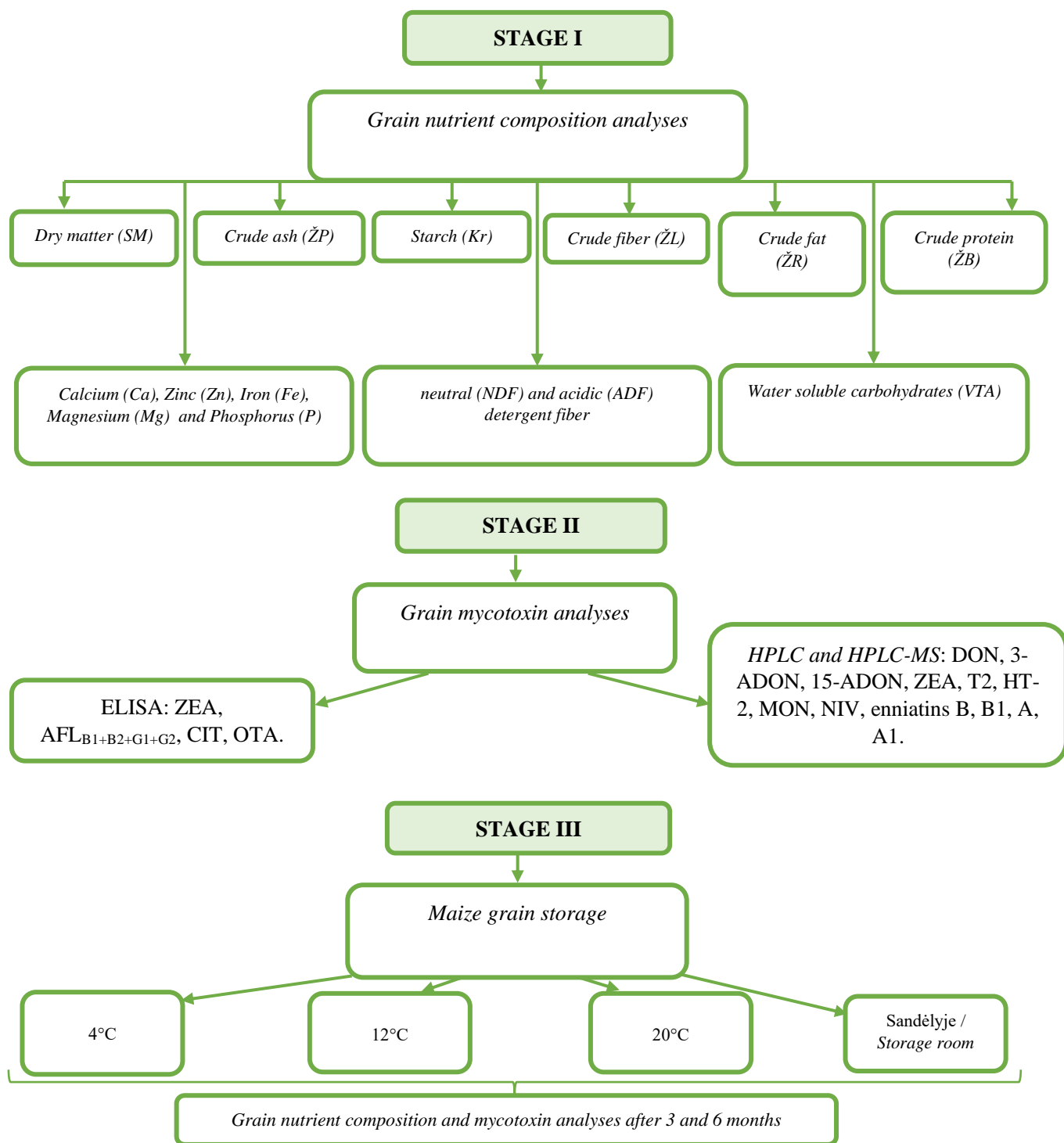


Fig. 1. Stages of laboratory analyses

The first stage involved analyses of nutritional value indicators. Dry matter (DM) was determined by drying to constant weight at 105°C. Crude protein (ŽB) by Kjeldahl method. Crude fat (ŽR) by Soxhlet extraction. Crude ash (ŽP) by weight (gravimetric) method. Crude fibre (ŽL) by gravimetric and reference methods. Starch by polarimetric method. Calcium, zinc, iron and magnesium content by atomic absorption spectrometry. Phosphorus content by spectrophotometric method. Neutral and acidic detergent fibre (NDF, ADF) by the Van Soest method. Water-soluble carbohydrates (VTA) using anthrone reagent.

In the second stage, mycotoxin analyses were conducted. In 2020 and 2021, deoxynivalenol (DON), 3-acetyl-deoxynivalenol (3-ADON), 15-acetyl-deoxynivalenol (15-ADON), T-2, and HT-2 toxins in maize grain were determined using a Shimadzu Prominence high-performance liquid chromatography system. During the internship at the BIOR Institute in Latvia concentrations of DON, 3-ADON, 15-ADON, T-2, HT-2 toxins, and zearalenone (ZEA) were measured in 2022 maize grain samples and 2020-2022 barley grain samples. Additionally, with previously mentioned mycotoxins, in 2020 – 2022 barley grain samples moniliformin (MON), nivalenol (NIV), and enniatins (ENN) B, B1, A, A1, were determined. The analyses were performed using an UltiMate 3000 high-performance liquid chromatography system coupled to a Thermo TSQ Quantiva triple quadrupole mass spectrometer. Quantitative analyses of aflatoxins (AFL_{B1+B2+G1+G2}), ZEA, ochratoxin A (OTA), and citrinin (CIT) were performed using commercially available ELISA kits.

In the third step, all samples were dried to approximately 13% moisture content and stored for 6 months. Storage conditions included constant temperature incubators set at 4 °C, 12 °C, and 20 °C, as well as a warehouse with varying environmental conditions. Tests assessing the nutritional value of the grains and mycotoxin levels were conducted at the start of the experiment, and then again after 3 and 6 months of storage.

Infection of *Ustilago maydis* rating

It is assessed by counting infected and healthy maize cobs in five randomly selected maize crop rows of 2 m in length, separately in each hybrid. The cobs are inspected to assess whether there is any visual evidence of common smut. Cobs infected with common smut were only found in 2021, while in 2020 and 2022 the maize cobs were not infected.

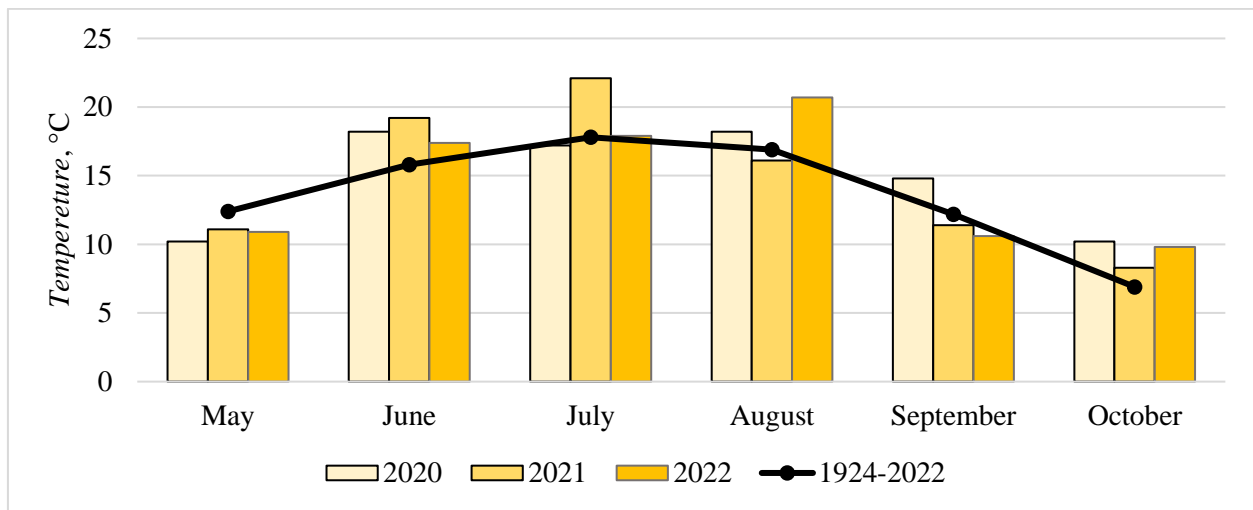


Fig. 2. The total monthly air temperature during the 2020–2022 growing seasons and the long-term average (1924–2022)

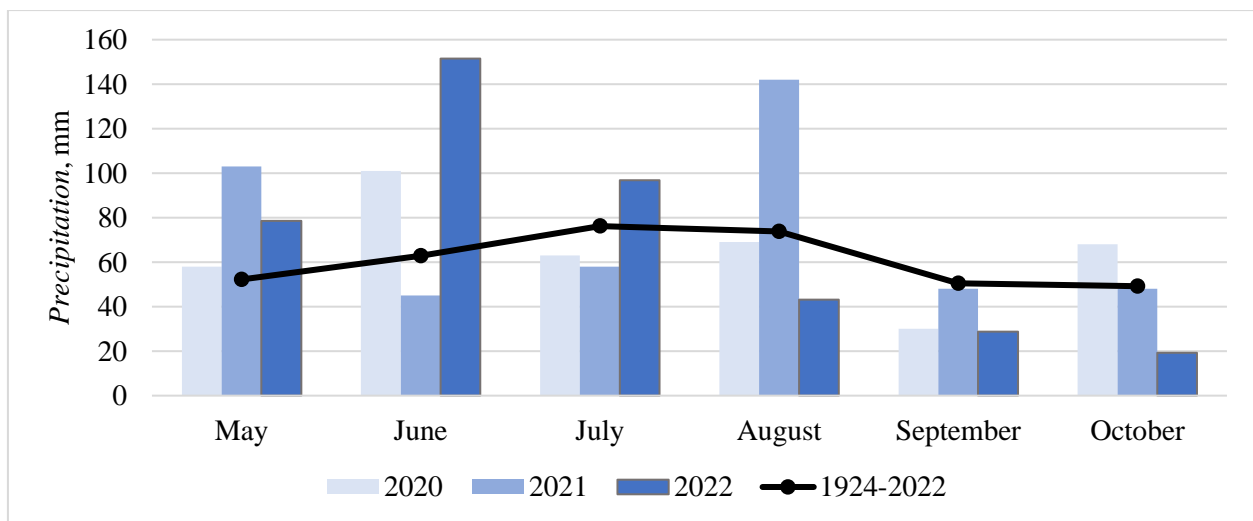


Fig. 3. The total monthly precipitation during the 2020–2022 growing seasons and the long-term average (1924–2022)

In 2020, precipitation and temperature were close to the annual averages. In contrast, 2021 had very dry and warm conditions during the barley and maize growing seasons, with cool and rainy weather occurring during the harvest. In 2022, cool and rainy weather persisted during the growing season, however during delayed harvest times there were dry and warm meteorological conditions.

Statistical analysis methods

We conducted statistical analysis using IBM SPSS Statistics (IBM Inc., Armonk, NY, USA) and Excel (Microsoft, USA). To determine significant differences in nutritive value content, *Fusarium* spp. infection, and mycotoxin concentrations, we employed one-way ANOVA with

Duncan's post hoc test. For comparisons between barley varieties and maize hybrids, the Student's t-test was used. Results are presented as 'mean \pm standard deviation'. Pearson's correlation coefficient was applied to assess correlations between *Fusarium* spp. fungi and mycotoxin concentration, as well as between nutritive value content and mycotoxin concentration. The statistical significance 'p' is indicated in parentheses.

RESULTS AND DISCUSSION

Nutritive value content in barley and maize grains

Barley grains. When looking at the differences in the nutritional value content between years, the highest starch content was found in 2020, the highest crude protein content and the lowest crude ash content was found in 2021 and the lowest crude fat content was found in 2022.

Differences between barley varieties were found in terms of crude protein and starch content. In 2021 and 2022, *Laureate* variety grains had a lower crude protein and higher starch content compared to *Luoké* variety grains.

Several trends were observed at later harvests: an increase in dry matter, crude fat and crude ash, while the crude protein content remained unchanged or decreased significantly in most cases.

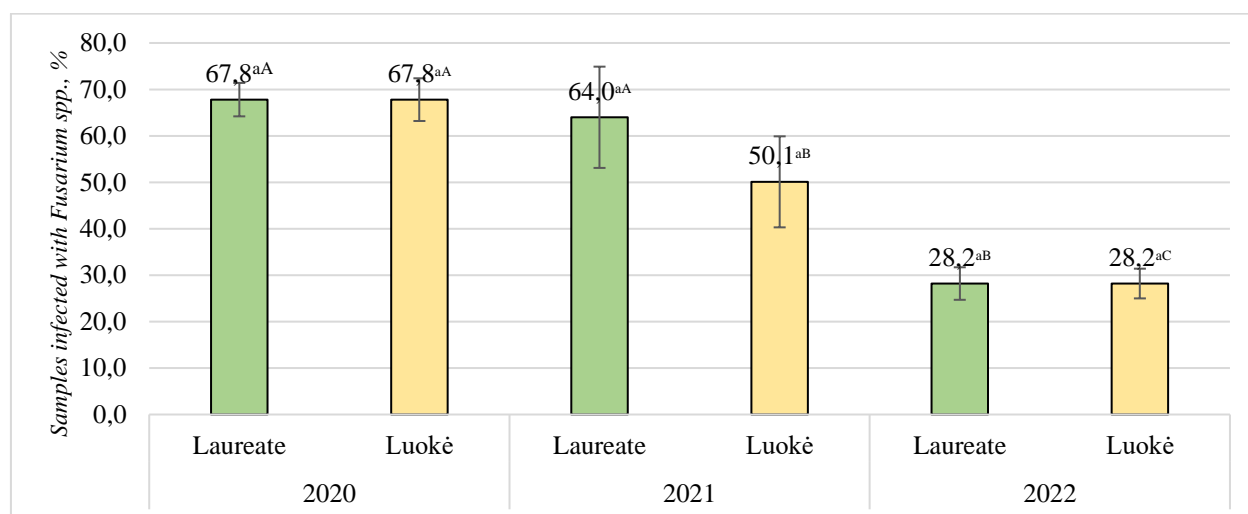
Maize grains. In terms of differences in nutritional value content between years, 2021 was the most exceptional year. Both hybrids recorded the highest levels of crude protein and neutral and acid detergent fiber, but the lowest levels of water soluble carbohydrate.

There were no significant differences between the maize hybrids and harvest delay showed the same trend with a significant increase in dry matter but a decrease in water-soluble carbohydrate in both hybrids.

Fusarium spp. fungi and mycotoxin infection in barley grain

Figure 4 illustrates the total *Fusarium* spp. infection in barley grain samples of different varieties. In both varieties, the highest contamination of grain samples was observed in 2020, with an infestation rate of 67.8%. In the case of the *Laureate* variety, a similar number of infested samples was observed in 2021, but in 2022, the number of infested samples reduced significantly, being almost 2.5 times lower than in 2020 and 2021 ($P < 0.001$). For the *Luoké* variety, the number of infected samples was 17.7% lower in 2021 ($P < 0.05$), and in 2022, it decreased almost 2.5 times compared to 2020 ($P < 0.001$) and 1.8 times lower than in 2021 ($P < 0.05$). While *Luoké*

exhibited significantly lower infection rates compared to *Laureate* in 2021, there were no significant differences between the two varieties in any other study years.



Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in *Fusarium* spp. infection between varieties within the same study year. Different uppercase letters indicate statistically significant differences in *Fusarium* spp. infection between years within the same variety grains.

Fig. 4. Different varieties of barley grain samples infected with *Fusarium* spp. in 2020–2022

HT-2 mycotoxin was present in all harvests in 2020 (Table 1), with some samples showing high concentrations. However, no significant changes were observed in delayed harvesting due to concentration variations between replicates. In 2021, HT-2 concentrations were mostly slightly higher than the limit of detection (LOD), with no significant differences between harvests.

The highest concentrations of ZEA were recorded in 2021 for both grain varieties. Nevertheless, due to substantial concentration variations between replicates, no significant differences were observed between harvests.

Total AFL_{B1+B2+G1+G2} concentrations detected in the study were generally low, with concentrations above the LOD observed only in 2020 and 2021. In both grain varieties in 2020 and 2021, concentrations at 1st harvest were below the detection limit, while higher concentrations in *Laureate* grain were detected after 2nd and 3rd harvests. For *Luoké* variety, concentrations above the LOD were only found at the 3rd harvest, significantly increasing to 4.7 µg kg⁻¹ in 2020 and to 2.4 µg kg⁻¹ in 2021 (P < 0.05).

Table 1. Changes in concentration of deoxynivalenol (DON), T-2, HT-2, zearalenone (ZEA) and aflatoxins (AFL_{B1+B2+G1+G2}) at different harvest times and different varieties of barley grains in 2020-2022.

Year	Variety	Harvest	DON	T-2	HT-2	ZEA	AFL B1+B2+G1+G2
2020	<i>Laureate</i>	I	< LOD	27 ± 7	85 ^a ± 33	< LOD	< LOD
		II	< LOD	< LOD	42 ^a ± 15	< LOD	1,8 ^b ± 0,1
		III	53 ± 19	< LOD	14 ^a ± 7	< LOD	2,5 ^a ± 0,3
	<i>Luokè</i>	I	< LOD	53 ^a ± 17	159 ^a ± 96	< LOD	< LOD
		II	< LOD	36 ^a ± 9	126 ^a ± 42	< LOD	< LOD
		III	< LOD	< LOD	50 ^a ± 23	< LOD	4,7 ± 0,2
2021	<i>Laureate</i>	I	< LOD	< LOD	14 ^a ± 8	362 ^a ± 187	< LOD
		II	< LOD	< LOD	25 ^a ± 10	427 ^a ± 309	2,2 ^a ± 0,3
		III	< LOD	< LOD	< LOD	511 ^a ± 52	2,1 ^a ± 0,1
	<i>Luokè</i>	I	< LOD	< LOD	29 ^a ± 7	469 ^a ± 103	1,7 ^b ± 0,1
		II	< LOD	< LOD	24 ^a ± 20	393 ^a ± 239	1,7 ^b ± 0,2
		III	< LOD	< LOD	11 ^a ± 1	719 ^a ± 250	2,4 ^a ± 0,1
2022	<i>Laureate</i>	I	< LOD	< LOD	< LOD	47 ^a ± 11	< LOD
		II	< LOD	< LOD	14 ^a ± 5	36 ^a ± 7	< LOD
		III	< LOD	< LOD	22 ^a ± 8	22 ^a ± 17	< LOD
	<i>Luokè</i>	I	< LOD	< LOD	< LOD	25 ^a ± 18	< LOD
		II	< LOD	< LOD	< LOD	52 ^a ± 49	< LOD
		III	< LOD	< LOD	< LOD	71 ^a ± 38	< LOD

Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentration between harvests within the same year and variety grains.

No significant changes were observed in the differences in the concentrations of MON, NIV, and enniatins B, B1, A, and A1 between the barley harvests in 2020 and 2021 as a result of delayed harvesting (Table 2).

However, in 2022, when the highest concentrations of NIV and enniatins were found, a significant increase in concentrations occurred in 3rd harvest. Specifically, in *Laureate* variety grains, the concentrations of NIV and enniatins B, B1, A, A1 at 3rd harvest increased by 205, 120, 132, 62, and 23 µg kg⁻¹, respectively, compared to 1st harvest (P < 0.05). For the *Luokè* variety grains, the concentrations of enniatins B, B1, A, A1 increased on average by 72, 100, 46, and 14 µg kg⁻¹ in harvest III compared to the first two harvests (P < 0.05).

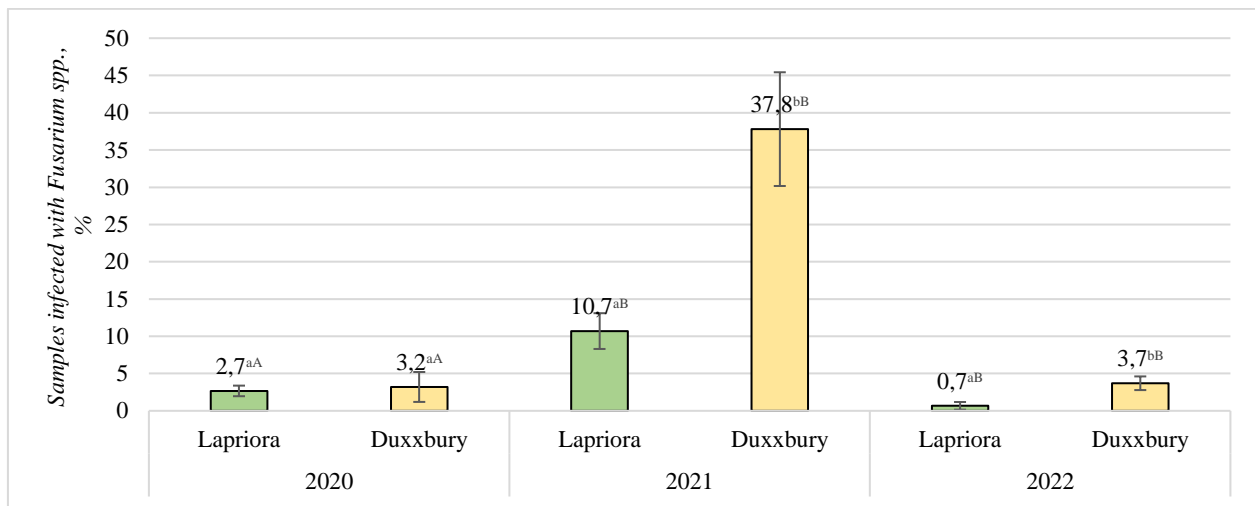
Table 2. Changes in concentration of moniliformin (MON), nivalenol (NIV) and enniatins B, B1, A, A1 at different harvest times and different varieties of barley grains in 2020–2022

Year	Variety	Harvest	MON	NIV	Enniatin B	Enniatin B1	Enniatin A	Enniatin A1
2020	Laureate	I	10,7 ^a ± 3,3	26 ^a ± 8	83 ^a ± 15	90 ^a ± 21	15 ^a ± 2	< LOD
		II	14,0 ^a ± 5,9	31 ^a ± 7	84 ^a ± 16	88 ^a ± 15	16 ^a ± 2	< LOD
		III	10,9 ^a ± 3,3	30 ^a ± 9	74 ^a ± 18	89 ^a ± 19	16 ^a ± 4	< LOD
	Luokè	I	2,9 ^a ± 2,6	40 ^a ± 5	101 ^a ± 19	89 ^a ± 23	34 ^a ± 9	7 ^a ± 1
		II	3,1 ^a ± 2,6	51 ^a ± 9	114 ^a ± 16	88 ^a ± 25	25 ^a ± 9	4 ^a ± 1
		III	0,7 ^a ± 0,5	39 ^a ± 5	103 ^a ± 13	85 ^a ± 21	29 ^a ± 11	4 ^a ± 1
2021	Laureate	I	< LOD	9 ^a ± 3	< LOD	21 ^a ± 5	< LOD	< LOD
		II	< LOD	17 ^a ± 8	< LOD	26 ^a ± 9	< LOD	< LOD
		III	< LOD	12 ^a ± 8	< LOD	21 ^a ± 11	< LOD	< LOD
	Luokè	I	< LOD	16 ^a ± 7	< LOD	57 ^a ± 16	< LOD	< LOD
		II	< LOD	23 ^a ± 9	< LOD	59 ^a ± 15	< LOD	< LOD
		III	< LOD	21 ^a ± 11	< LOD	51 ^a ± 17	< LOD	< LOD
2022	Laureate	I	< LOD	196 ^b ± 42	219 ^b ± 24	171 ^b ± 18	56 ^b ± 7	11 ^b ± 4
		II	< LOD	225 ^b ± 31	299 ^{ab} ± 76	232 ^{ab} ± 49	77 ^{ab} ± 18	18 ^{ab} ± 4
		III	< LOD	401 ^a ± 78	339 ^a ± 50	303 ^a ± 58	118 ^a ± 29	34 ^a ± 7
	Luokè	I	< LOD	232 ^a ± 70	155 ^b ± 24	137 ^b ± 29	49 ^b ± 13	8 ^b ± 5
		II	< LOD	187 ^a ± 14	119 ^b ± 32	93 ^b ± 10	26 ^b ± 4	4 ^b ± 3
		III	< LOD	231 ^a ± 33	209 ^a ± 30	215 ^a ± 35	83 ^a ± 13	20 ^a ± 3

Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentration between harvests within the same year and variety grains.

***Fusarium* spp. fungi and mycotoxin infection in maize grain**

Figure 5 displays the infection of samples with *Fusarium* spp. The study revealed that the meteorological conditions in 2021 were significantly more favorable for the spread of *Fusarium* spp. In *Lapriora* hybrid grain samples, the incidence of *Fusarium* spp. was 4 times higher in 2020 and 16 times higher in 2022 ($P < 0.001$). For the *Duxxbury* hybrid grain samples, the incidence of *Fusarium* spp. in grain was 12 times higher than in 2020 and 10 times higher than in 2022 ($P < 0.001$). Regarding differences between hybrids, in 2020, infestation levels were similar in the grains of both hybrids. However, in 2021, the *Duxxbury* hybrid grain samples showed a 4-fold ($P < 0.01$), and in 2022, a 5-fold ($P < 0.01$) higher infestation compared to the *Lapriora* hybrid grain samples.



Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in *Fusarium spp.* infection between hybrids within the same study year. Different uppercase letters indicate statistically significant differences in *Fusarium spp.* infection between years within the same hybrid grains.

Fig. 5. Different hybrids of maize grain samples infected with *Fusarium spp.* fungi in 2020–2022

In 2021, meteorological conditions were also favourable for the spread of the common smut (*Ustilago maydis*). To assess the incidence of common smut, cobs were categorized as damaged, healthy, or undeveloped, and the results are shown in Figure 6. When evaluating the infected, healthy, and undeveloped cobs, it was evident that the *Duxxbury* hybrid crop was 4 times more infested than the *Lapriora* hybrid crop ($P < 0.001$). Additionally, the *Lapriora* hybrid crop had 3 times more undeveloped cobs ($P < 0.01$). The prevalence of common smut in the maize crop in 2021 may have significantly contributed to the spread of *Fusarium spp.* fungi in the grain.

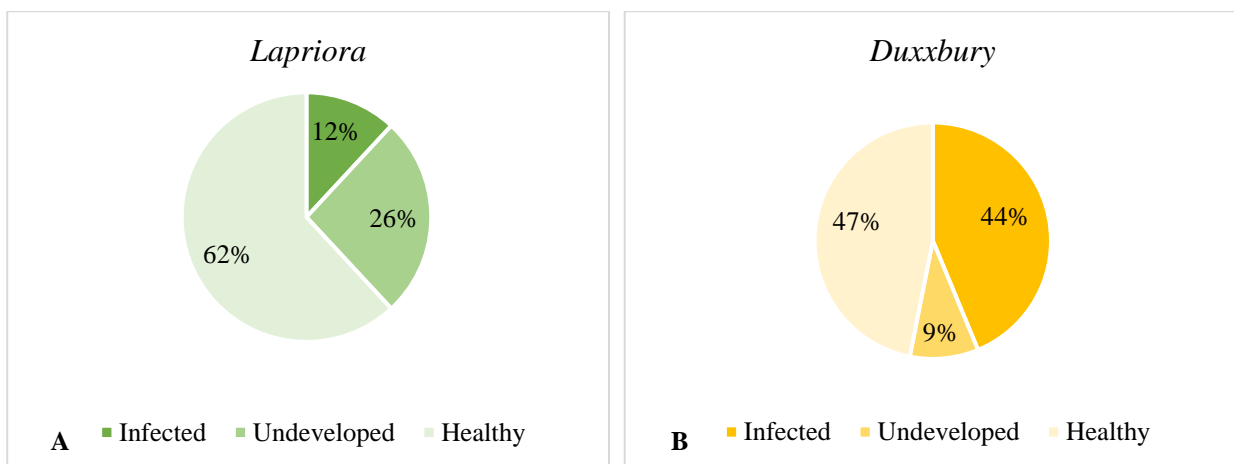


Fig. 6. The number of cobs damaged by *Ustilago maydis* in *Lapriora* (A) and *Duxxbury* (B) maize hybrids in 2021

In 2021, significantly higher concentrations of mycotoxins were detected in grain, with notable differences between hybrids (Table 3). The *Duxxbury* hybrid grains exhibited several-fold higher concentrations of DON, 3-ADON, 15-ADON, T-2, HT-2, and ZEA. Specifically, concentrations of DON and 3-ADON were 6-fold higher ($P < 0.05$), 15-ADON was 4-fold higher

($P < 0.05$), T-2 toxin was 25-fold higher ($P < 0.01$), HT-2 toxin was 15-fold higher ($P < 0.001$), and ZEA was 3-fold higher ($P < 0.05$) in *Duxxbury* hybrid grain than in *Lapriora* hybrid grain.

Delaying harvest concentrations either remained stable or increased significantly, with significant increases observed primarily at the latest harvest. In 2020, DON concentrations significantly increased in *Duxxbury* hybrid grain ($P < 0.05$), and HT-2 concentrations significantly increased in *Lapriora* hybrid grain ($P < 0.05$).

In 2021, significant concentration increases were observed in both hybrids for DON, 3-ADON, 15-ADON, and HT-2. In *Duxxbury* hybrid grains, DON concentrations increased 8-fold ($P < 0.01$) and 3-fold ($P < 0.05$) compared to 1st harvest, 3-ADON concentrations increased 3-fold ($P < 0.01$), 15-ADON concentrations increased 7-fold ($P < 0.01$) and HT-2 concentrations increased 1.4-fold ($P < 0.05$) compared to the first two harvests. In *Lapriora* hybrid grains, the concentration of DON increased 9-fold ($P < 0.05$), 15-ADON 12-fold ($P < 0.01$) and HT-2 8-fold compared to the first two harvests. At 3rd harvest, the concentration of T-2 in *Lapriora* hybrid grain increased 7-fold and 11-fold compared to the 1st and 2nd harvests, respectively ($P < 0.05$). In contrast, the concentration of ZEA increased significantly only in *Duxxbury* hybrid grains and was 4-fold and 15-fold higher at 3rd harvest than at 1st and 2nd harvests, respectively ($P < 0.01$).

Table 3. Changes in concentration of deoxynivalenol (DON), 3-acetyl-deoxynivalenol (3-ADON), 15-acetyl-deoxynivalenol (15-ADON), T-2, HT-2, zearalenone (ZEA) and aflatoxins ($AFL_{B1+B2+G1+G2}$) at different harvest times and different hybrids of maize grains in 2020-2022.

Year	Hybrid	Harvest	DON	3-ADON	15-ADON	T-2	HT-2	ZEA	AFL B1+B2+G1+G2
2020	<i>Duxxbury</i>	I	150 ^b ± 16	< LOD	< LOD	23 ^a ± 2	50 ^a ± 3	42 ± 1	< LOD
		II	202 ^{ab} ± 11	< LOD	< LOD	36 ^a ± 4	53 ^a ± 10	< LOD	< LOD
		III	233 ^a ± 22	< LOD	< LOD	24 ^a ± 5	41 ^a ± 1	< LOD	< LOD
	<i>Lapriora</i>	I	198 ^a ± 18	< LOD	< LOD	27 ^a ± 4	50 ^b ± 5	43 ^a ± 1	< LOD
		II	229 ^a ± 14	< LOD	< LOD	28 ^a ± 9	35 ^b ± 7	37 ^a ± 1	< LOD
		III	273 ^a ± 44	< LOD	< LOD	63 ^a ± 16	102 ^a ± 25	40 ^a ± 1	< LOD
2021	<i>Duxxbury</i>	I	1880 ^b ± 920	31 ^b ± 15	109 ^b ± 40	1960 ^a ± 976	884 ^b ± 209	237 ^b ± 75	< LOD
		II	4456 ^b ± 1387	40 ^b ± 20	169 ^b ± 60	2099 ^a ± 1518	831 ^b ± 299	68 ^b ± 10	< LOD
		III	15019 ^a ± 4018	322 ^a ± 83	968 ^a ± 201	1413 ^a ± 346	1197 ^a ± 215	1001 ^a ± 268	< LOD
	<i>Lapriora</i>	I	227 ^b ± 84	< LOD	< LOD	25 ^b ± 11	22 ^b ± 10	192 ^a ± 49	< LOD
		II	518 ^b ± 203	< LOD	35 ^b ± 16	16 ^b ± 3	17 ^b ± 4	86 ^a ± 20	< LOD
		III	3481 ^a ± 1463	64 ± 24	246 ^a ± 69	174 ^a ± 145	154 ^a ± 131	142 ^a ± 46	< LOD
2022	<i>Duxxbury</i>	I	346 ^a ± 86	Sum < LOD*	< LOD	< LOD	< LOD	98 ^a ± 25	< LOD
		II	192 ^a ± 48	Sum < LOD	< LOD	< LOD	< LOD	58 ^a ± 11	< LOD
		III	< LOD	Sum < LOD	< LOD	< LOD	< LOD	25 ^a ± 10	< LOD
	<i>Lapriora</i>	I	< LOD	Sum < LOD	< LOD	< LOD	< LOD	44 ^a ± 29	< LOD
		II	< LOD	Sum < LOD	< LOD	< LOD	< LOD	70 ^a ± 34	< LOD
		III	69 ± 41	Sum < LOD	< LOD	< LOD	< LOD	25 ^a ± 19	< LOD

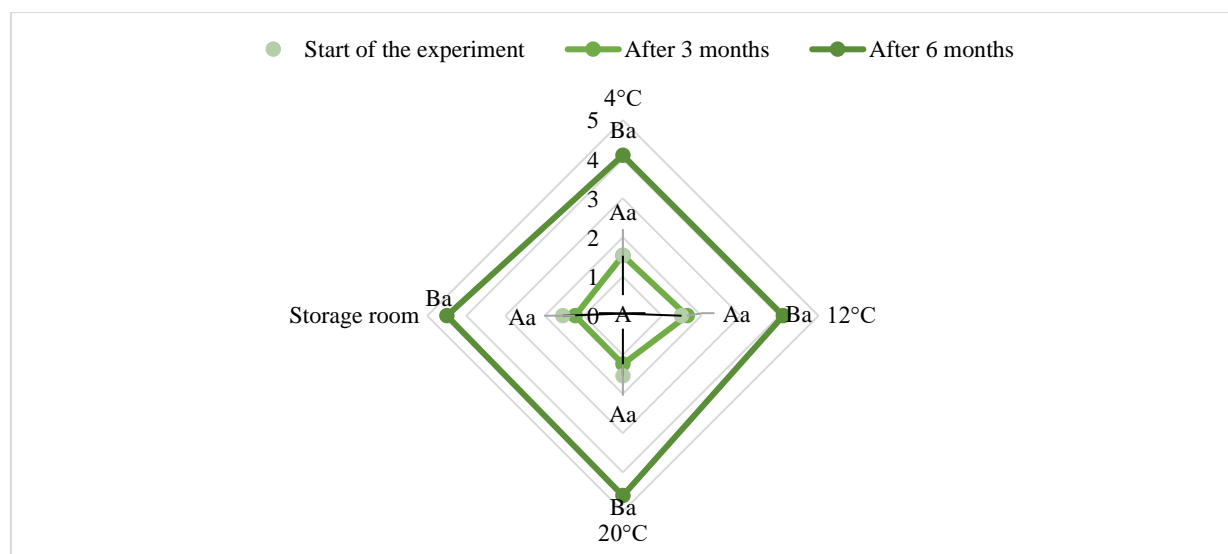
Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentration between harvests within the same year and hybrid. *In 2022, the total concentration of 3 and 15-ADON was determined using high-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry.

It was also observed that DON concentrations in 13% of the samples, T-2 and HT-2 concentrations in 50% of the samples and ZEA concentrations in one of the samples exceeded the maximum guidance levels established by the European Commission for animal feed.

Maize grain storage experiment

Figure 7 shows changes in the total AFL_{B1+B2+G1+G2} concentration. The evaluation of total AFL concentration under various storage conditions revealed that after 3 months of storage, concentrations remained nearly constant and did not significantly differ among the different storage conditions.

However, after 6 months, concentrations increased approximately 3-fold across all storage locations ($P < 0.001$). Specifically, at 4°C and 12°C, the total concentration increased from 1.5 to 4.1 $\mu\text{g kg}^{-1}$, at 20°C, it increased from 1.5 to 4.7 $\mu\text{g kg}^{-1}$, and at the storage room where conditions depend on outdoor conditions, it increased from 1.5 to 4.5 $\mu\text{g kg}^{-1}$. This increase in concentration was similar across the different storage conditions, resulting in no significant differences between storage place.



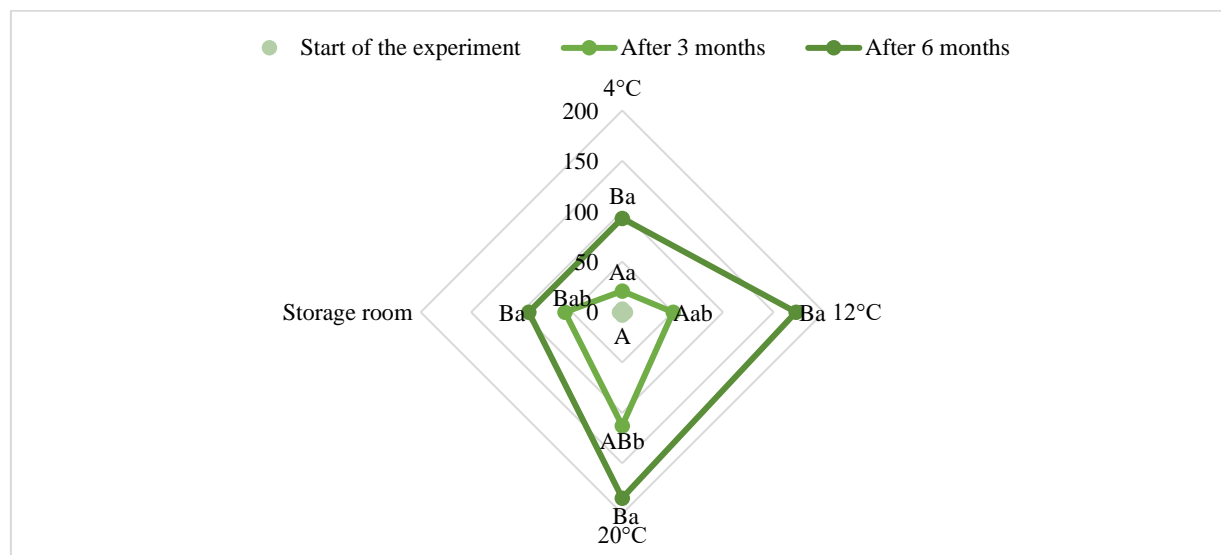
Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentrations between different storage conditions within the same time period. Different uppercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentrations between time periods within the same storage location.

Fig. 7. Total AFL concentration in maize grain under different storage conditions.

In Figure 8, changes in CIT concentrations are displayed. Initially, the maize grains were free of CIT contamination. After 3 months of storage in storage room where conditions depend on outdoor conditions, CIT concentrations increased to $56.9 \pm 21.4 \mu\text{g kg}^{-1}$ ($P < 0.01$). After 3 months of storage at 4°C, 12°C, and 20°C concentrations were higher, but significantly different.

Following 6 months of storage at 4°C, 12°C, and 20°C, concentrations significantly increased, surpassing both the initial levels and the concentrations after 3 months. Specifically, concentrations reached $93.1 \pm 17.6 \mu\text{g kg}^{-1}$ ($P < 0.001$) at 4°C, $172.3 \pm 41.7 \mu\text{g kg}^{-1}$ ($P < 0.001$) at 12°C, and $184.5 \pm 49.0 \mu\text{g kg}^{-1}$ ($P < 0.01$) at 20°C.

Comparing the different storage places, concentrations at 20°C were 5 times higher after 3 months than at 4°C ($P < 0.01$). However, no further significant differences in concentrations were observed between the different storage locations after 3 and 6 months of storage.



Note. Different lowercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentrations between different storage conditions within the same time period. Different uppercase letters indicate statistically significant differences in mycotoxin concentrations between time periods within the same storage location.

Fig. 15. CIT concentration in maize grain under different storage conditions.

CONCLUSIONS

1. The barley grains of the *Laureate* variety exhibited reduced protein levels but higher starch content compared to the *Luoké* variety barley grains. Furthermore, both varieties displayed an increase in dry matter, crude fat, and crude ash content when the harvest was delayed.
2. The infestation of *Fusarium* spp. in barley grain became significantly more severe when the weather was rainy during the harvest period. During this time, *Fusarium* spp. contamination reached as high as 92%, with the detection of the highest concentrations of regulated mycotoxins, including zearalenone and HT-2.
3. The delay in harvesting influenced the increase in mycotoxin concentrations in the barley grain samples, with a significant increase in the concentrations of aflatoxins B1+B2+G1+G2 and eniatis B, B1, A, A1.

4. No differences were found in the quality parameters of maize grain between the hybrids analysed, however the delay in harvesting resulted in a decrease in water-soluble carbohydrates.
5. The presence of *Ustilago maydis* pathogens in maize crops had a significant impact on mycotoxin contamination in maize grain. Maize grains, were also more heavily contaminated with *Fusarium* spp. fungi and their mycotoxins. Notably, the *Duxxbury* hybrid grains were several times more contaminated with pathogens and mycotoxins compared to the *Lapriora* hybrid grains.
6. Delaying the harvest resulted in higher concentrations of deoxynivalenol, as well as 3 and 15 acetyl-deoxynivalenols, T-2, HT-2 toxins, and zearalenone in maize grains.
7. The duration of maize grain storage, which extended up to 6 months, had a significant impact on increasing citrinin and aflatoxins B1+B2+G1+G2 concentrations.

LIST OF PUBLICATIONS

Articles in peer-reviewed journals indexed in the “Clarivate Analytics Web of Science”:

1. **Venslovas E.**, Mankevičienė A., Kochiieru Y., Merkevičiūtė-Venslovė L., Janavičienė S. 2022. Effect of storage conditions on the occurrence of mycotoxins and nutrient composition in maize grains. *Zemdirbyste-Agriculture*, 109 (4): 359–364. IF – 0,9
2. **Venslovas E.**, Mankevičienė A., Kochiieru Y., Janavičienė S., Dabkevičius Z., Bartkevičs V., Bērziņa Z., Pavlenko R. 2023. The effect of *Ustilago maydis* and delayed harvesting on A- and B-type trichothecene concentrations in maize grain. *Journal of Fungi*, 9 (8): 794. IF – 5,2

Abstracts in conference proceedings:

1. **Venslovas E.**, Kochiieru Y., Mankevičienė A. 2020. Kukurūzų grūdų kokybės rodiklių kitimas sandėliuojant ir citrinino atsiradimo rizika. Theses of the 9th young researchers conference „Jaunieji mokslininkai – žemės ūkio pažangai“, p. 38.
2. **Venslovas E.**, Kochiieru Y., Mankevičienė A., Merkevičiūtė-Venslovė L., Janavičienė S. The changes in deoxynivalenol concentration and nutritive composition in maize grains due delaying harvesting. „CYSENI 2021“ conference proceedings, 2021, 998–1005 p.
3. **Venslovas E.**, Kochiieru Y., Mankevičienė A., Janavičienė S., Merkevičiūtė-Venslovė L. Risk of changes in nutritive value and mycotoxin concentration in maize grains during storage. „42nd Mycotoxin Workshop“ conference proceedings, 2021, 94 p.
4. **Venslovas E.**, Mankevičienė A., Merkevičiūtė-Venslovė L. Pūslėtųjų kūlių paplitimas kukurūzų pasėlyje ir jų įtaka derliaus kokybės rodikliams. Theses of the 10th young researchers conference “Jaunieji mokslininkai – žemės ūkio pažangai”, 2021, p. 19.
5. **Venslovas E.**, Mankevičienė A., Kochiieru Y. Harvest time impact on maize grains nutrient composition and zearalenone concentration. “CYSENI 2022” conference proceedings 2022, 564–566 p.
6. **Venslovas E.**, Mankevičienė A., Kochiieru Y., Janavičienė S. Distribution of T-2 and HT-2 toxins in Lithuanian maize grain during different harvest time. „43rd Mycotoxin Workshop“ conference proceedings, 2022, 66 p.
7. **Venslovas E.**, Janavičienė S. Risk of mycotoxin formation in barley grain during delayed harvesting. „AgroEco2022“ conference proceedings, 2022, 67 p.
8. **Venlovas E.** Mycotoxin prevalence in grain of maize hybrids and barley cultivars during delayed harvesting. „CYSENI 2023“ conference proceedings, 2023, 71 p.

9. **Venslovas E.**, Mankevičienė A., Kochieru Y., Janavičienė S. Occurrence of „emerging“ mycotoxins and their producers in spring barley and their relation to nutrient composition in Lithuania. „44th Mycotoxin Workshop“ conference proceedings, 2023, 72 p.

Popular press articles

1. **Venslovas E.**, Mankevičienė A. 2022/March. Pūslėtosios kūlės kukurūzų pasėliuose – sausros ir karšto oro ryškė. Mano ūkis, 32–37 p.
2. Janavičienė S., **Venslovas E.** 2023/February. Mikotoksinų rizika miežuose. Mano ūkis, 31-33 p.

Recommendations:

1. Mankevičienė A. **Venslovas E.** 2023. Ar kukurūzų pasėlių užterštumas pūslėtosiomis kūlėmis gali turėti įtakos mikotoksinų kiekiui grūduose? Naujausios rekomendacijos žemės ir miškų ūkiui. Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centras, 15 p.
2. Mankevičienė A. **Venslovas E.** 2023. Citrinino atsiradimo rizika sandėliuojamų kukurūzų grūduose. Naujausios rekomendacijos žemės ir miškų ūkiui. Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centras, 16 p.

CURRICULUM VITAE

Name, surname

Eimantas Venslovas

Date of birth

6 January, 1994

Education

2019–2023 PhD studies at Lithuanian Research Centre for Agriculture and Forestry.

2013–2019 Degree of master of Veterinary Medicine and the qualification of Veterinary doctor, Veterinary Academy, Lithuanian University of Health Sciences.

2009–2013 Panevėžys “Mintis” gymnasium.

2001–2009 Panevėžys “Šaltinis” progymnasium.

Professional experience

Since October 1st, 2019, Junior researcher, Institute of Agriculture, Lithuanian Research Centre for Agriculture and Forestry, Plant Pathology and Protection Department.

February 2019 – September 2019 Veterinarian at the agricultural company “Draugas”.

May 2018 – November 2018 Veterinarian trainee at the agricultural company “Draugas”.

Eimantas VENSLOVAS

**PAŠARINIŲ AUGALŲ MITYBINĖ VERTĖ IR MIKOTOKSINŲ KAUPIMOSI
RIZIKA APLINKOS IR ANTROPOGENINIŲ VEIKSNIŲ POVEIKYJE**

Mokslo daktaro disertacija

Redagavo autorius

Spausdino – Vytauto Didžiojo universitetas
K. Donelaičio g. 58, LT-44248 Kaunas
Užsakymo Nr. 23-171. Tiražas 15 egz. 2023 11 03.
Nemokama