



J. Chrpová a kol.

Metodika pro detekci zrn napadených patogeny z rodu *Fusarium* u pšenice

Metodika pro praxi

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha - Ruzyně
2018

Dedikace

Metodika je výsledkem řešení výzkumného projektu NAZV QK1710302 „Zvýšení odolnosti pšenice vůči suchu, mrazu, padlí a fuzariózám klasu pomocí metod genomiky a proteomiky“ - 70 %.

Při zpracování metodiky bylo také využito výsledků získaných při řešení projektu FV10213 „Platforma pro identifikaci a interpretaci stresových faktorů v rostlinné produkci“ - 30 %.

Publikaci bylo Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským uděleno osvědčení č. 158625/2018 o uznání metodiky v souladu s podmínkami Metodiky hodnocení výzkumných organizací a programů účelové podpory výzkumu, vývoje a inovací, schválené usnesením vlády dne 8. února 2017, číslo 107 a její samostatné přílohy č. 4 schválené usnesením vlády dne 29. listopadu 2017 č. 837. O uplatnění byla uzavřena smlouva s Rolnickým družstvem Bezno.

Oponenti

RNDr. Ivana Polišenská, Ph.D., Agrotest fyto, s.r.o.

Ing. Pavel Kraus, Ph.D., Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský

© Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha, 2018

ISBN 978-80-7427-286-8

Metodika pro detekci zrn napadených patogeny z rodu *Fusarium* u pšenice

Jana Chrpová, Jana Palicová, Martina Trávníčková, Jan Lukáš, Ondřej Veškrna, Kamil Horák, Jan Sova

Anotace

Cílem metodiky je informovat o metodách využitelných pro identifikaci fuzáriových zrn. Metodika může najít uplatnění v semenářských podnicích, ve výkupu a v mlýnech (obrazová analýza termografických dat) nebo ve šlechtitelské praxi (využití přístroje Marvin).

Klíčová slova

Triticum aestivum, pšenice, *Fusarium*, mykotoxiny, poškozená zrna, Marvin, obrazová analýza

Methodology for detection of Fusarium damaged kernels in wheat

The aim is to inform about methods that can be used to identify Fusarium damaged grains. The methodology can be used in seed producers, in agricultural supply and purchase and in mills (image analysis of thermographic data) or in breeding practice (Marvin use).

Key words

Triticum aestivum, wheat, *Fusarium*, mykotoxins, damaged kernels, Marvin, image analysis of thermographic data

Obsah

I.	Cíl metodiky	3
II.	Vlastní popis	3
	1. Úvod	3
	2. Hygienické limity	4
	3. Průběh infekce patogeny z rodu <i>Fusarium</i>	4
	4. Infekce dalšími patogeny	5
	5. Ochranná opatření	5
	6. Odolnost odrůd pšenice k fuzarióze klasu	6
	7. Fuzariózou napadená zrna a obsah mykotoxinů	6
	8. Vizuální hodnocení poškozených zrn	10
	9. Metody využitelné pro automatizaci detekce podílu fuzariózních zrn ve vzorcích pšenice	12
	10. Nově vyvinuté metody pro detekci fuzáriových zrn	13
	10.1. Využití přístroje Marvin	13
	10.2. Obrazová analýza termografických dat	14
III.	Srovnání novosti přístupů	18
IV.	Popis uplatnění certifikované metodiky	18
V.	Ekonomické aspekty	19
VI.	Seznam použité literatury	19
VII.	Seznam publikací, které předcházely metodice	20
	Příloha 1	21

I. CÍL METODIKY

Cílem metodiky je informovat o metodách využitelných pro identifikaci fuzáriových zrn. Metodika je určena především pro semenářské podniky, výkup a zpracovatele obilovin, může být využita i ve šlechtění a výzkumu.

II. VLASTNÍ POPIS METODIKY

Metodika jako celek zahrnuje následující části: přehled legislativy vztahující se k obsahu mykotoxinů v zrně pšenice, obrazovou dokumentaci napadených zrn, metody využívané pro detekci napadených zrn a doporučení pro praxi. Výsledky vycházejí z poznatků získaných při hodnocení odrůdové rezistence v pokusech s umělou infekcí i při hodnocení vzorků získaných v rámci monitoringu z provozních ploch v ČR.

1. ÚVOD

Na kvalitu zrna obilovin má vliv řada faktorů, mezi něž patří i napadení houbovými chorobami. Mikroskopické vláknité houby rodu *Fusarium* napadají pšenici, ječmen, oves a kukuřici, napadení žita a triticales je méně časté. Kromě toho, že v důsledku napadení dochází ke snížení kvality zrna a k výnosovým ztrátám, produkují tyto vláknité houby velké množství sekundárních metabolitů (mykotoxinů) vykazujících různý stupeň toxicity a majících tak negativní vliv na zdraví lidí a hospodářských zvířat. K rozšíření klasových fuzarióz přispívá ústup od tradičního střídání plodin (převažující obilniny, mizející víceleté píce) a standardního zpracování půdy. Stupeň napadení a kontaminaci zrna mykotoxiny ovlivňuje celá řada faktorů, z nichž rozhodující význam má průběh počasí v daném roce (především srážky a teploty) a dále stupeň rezistence odrůdy, předplodina a způsob zpracování půdy. Přestože Česká republika nepatří k nejvíce ohroženým oblastem světa, v některých ročnících dochází ke zvýšenému výskytu klasových fuzarióz a k překročení limitů maximálního obsahu mykotoxinů. Jako původce klasových fuzarióz (růžovění klasů pšenice) v naší republice bývá zjišťováno zhruba 15 druhů rodu *Fusarium*. Mezi významné producenty mykotoxinů na pšenici a ječmeni patří druhy *F. graminearum* a *F. culmorum*, které produkují trichotheceny typu B. Nejvíce sledovaným mykotoxinem z této skupiny je deoxynivalenol (DON), setkat se můžeme i s dalším trichothecenem typu B,

kterým je nivalenol (NIV). DON patří k méně toxickým trichothecenovým mykotoxinům, je ale považován za indikátor možného výskytu dalších toxičtějších trichothecenů. Významným mykotoxinem produkovaným druhem *F. graminearum* a *F. culmorum* je rovněž zearalenon (ZEA) a jeho deriváty. Další mykotoxiny patřící do skupiny trichothecenů A (T-2 a HT-2 toxiny a další) jsou produkovány zejména patogeny *F. sporotrichoides*, *F. langsethiae* a *F. poae*, které jsou nalézány na ovsu. Globální oteplování a klimatické změny přispívají k rozšiřování dříve méně běžných druhů fuzárií. Důsledkem toho se spektrum mykotoxinů v různých komoditách rok od roku mění a bývá výrazně pestřejší.

2. HYGIENICKÉ LIMITY

Limity maximálního obsahu fuzáriových toxinů v obilovinách jsou stanoveny podle Nařízení Komise 1881/2006 (ES). Pro nezpracované obiloviny kromě pšenice tvrdé, ovsa a kukuřice je limit pro deoxynivalenol 1,25 mg/kg a pro zearalenon 0,1 mg/kg. Další fuzáriové mykotoxiny - fumonisiny jsou limitovány pouze v kukuřici, a to sumou fumonisinů B1 a B2 (limit - 4 mg/kg). Již delší dobu se diskutuje zavedení souhrnného limitu pro T-2 a HT-2 toxiny, zatím však není konkrétní hodnota v legislativě uvedena.

3. PRŮBĚH INFEKCE PATOGENY Z RODU *FUSARIUM*

Kritickým obdobím pro napadení klasů patogeny z rodu *Fusarium* je doba kvetení porostů. Především při průběhu vegetačního období s nadměrnými srážkami a relativně chladnějším počasím je předpoklad zvýšené kontaminace zrna mykotoxiny. Napadení kvítka patogenem má často za následek odumření budoucí obilky nebo její nedostatečný vývin. Silněji poškozené obilky se do sklizně nedostanou (budou odstraněny při kombajnové sklizni vyfouknutím). Patogen se ale v napadeném kvítku uchytí a prorůstá přes klasové vřeteno do sousedních klásků. K šíření patogena na další klasy a k prorůstání na obilky může docházet i později, dokud jsou klasy zelené, popř. i déle až do sklizně porostů. Čím pozdější infekce, tím méně proniká patogen do obilky. Někdy zůstane jen na povrchu nebo proroste jen do osemení. Největší problém nastane, když houba proroste až do endospermu. Silně napadené plně vyvinuté obilky jsou nápadně změnou barvy a mechanické pevnosti. Při sklizni se snadněji rozlámou, ale část se jich může dostat i mezi sklizené zrno. Napadené obilky jsou často celé bílé, někdy i s narůžovělým nebo jemně fialovým odstínem. Někdy jsou potaženy slabou vrstvou mycelia, často ale zůstanou hladké. Nápadnější jsou u odrůd s tmavší

barvou zrna, mezi světlými obilkami je lze přehlédnout. Přítomnost bílých obilek ve sklizeném zrně ukazuje na nebezpečí vyššího obsahu mykotoxinů. Drobné bílé obilky (anglický název tombstone) jsou myceliem zcela prorostlé, mají vysoký obsah mykotoxinů a původce z nich lze snadno kultivovat. Nejčastěji se vyskytují při napadení druhem *F. graminearum*. (Chrpová a kol., 2007). Tyto obilky jsou často odstraněny již při kombajnové sklizni a následném čištění.

4. INFEKCE DALŠÍMI PATOGENY

Mikroskopické houby kontaminují zrniny v průběhu celého výrobního procesu, tj. pěstování, sklizně, transportu a zejména při skladování a konzervaci. Lze rozlišit tři skupiny: polní (rod *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium* a další), které jsou přítomny v zrně již před sklizní obilnin, skladištní (rod *Aspergillus*, *Penicilium*), které mohou produkovat mykotoxiny v podmínkách skladování a polní i skladištní mikroskopické houby (rod *Penicilium*). Čonková a kol. (2006), udávají, že nejčastějšími druhy vyskytujícími se na pšenici po sklizni jsou *Fusarium*, *Aspergillus* a *Penicilium*. Je třeba brát v úvahu, že i zrna napadená jinými patogeny než je *Fusarium* mohou být kontaminovány mykotoxiny. Navíc *Aspergillus*, *Alternaria* a *Penicillium* patří k houbovým patogenům nejčastěji působícím alergie (Masaki a kol., 2017).

5. OCHRANNÁ OPATŘENÍ

K minimalizaci mykotoxinové kontaminace obilovin lze přispět dodržováním zásad správné zemědělské, sklizňové a skladovací praxe. Ty zahrnují mimo jiné střídání plodin, správné ošetření půdy po sklizni i před setím a racionální aplikaci hnojiv a pesticidů. Významnou roli v ochraně proti fuzariózám klasu hraje v konvenčním i v ekologickém zemědělství použití odrůd s vyšší úrovní rezistence. Při konvenčním pěstování k tomu přistupuje i ošetření fungicidy, které obsahující látky účinné proti původcům klasových fuzarióz. Po sklizni lze obsah DON snížit vyčištěním o 30 – 50 %. Dále pak 70 – 80 % DON přechází ze zrna do mouky (Řehořová a kol., 2008). Prevence nebo inhibice růstu patogenů po dobu uskladnění se obvykle zabezpečuje úpravou vnitřního prostředí v skladovacích prostorech (vlhkost, teplota a plynná atmosféra). Hladina vlhkosti se dá snížit sušením ještě před uskladněním.

6. ODOLNOST ODRŮD PŠENICE K FUZARIÓZE KLASU

Šlechtění na odolnost je složité, rezistentní odrůdy dosud nebyly vyšlechtěny. **Při pěstování současných komerčně využívaných odrůd je třeba vždy počítat s určitou mírou rizika spojenou s výskytem klasových fuzarióz.** Ve VÚRV, v.v.i. je dlouhodobě hodnocena ve spolupráci s ÚKZÚZ odolnost k fuzarióze klasu na základě polních testů s umělou infekcí. Náchylnost k fuzarióze klasu jako pěstitelské riziko byla průběžně zjištěna u odrůd: Caphorn, Complet, Cubus, Darwin, Drifter, Mladka, Biscay, Florett, Heroldo, Karolinum, Alibaba, Rapsodia, Vlasta, Etela, Kodex, Manager, Bagou, Iridium, Secese, Jindra, Altigo, Beduin, Carroll, Fermi, Hewitt, KWS Ozon, Seladon, Tiguan, Matchball, Tobak, Vanessa, Brokat, RGT Matahari, Rivero, Baracuda.

7. FUZARIÓZOU NAPADENÁ ZRNA A OBSAH MYKOTOXINŮ

Výskyt poškozených zrn úzce souvisí s obsahem DON (Obr. 1 a Obr. 2). Na základě výskytu fuzariových zrn lze predikovat zvýšený obsah DON. Detekce fuzariových zrn má velký význam ve výkupu, kdy poškození zrna ukazuje na možnost zvýšeného obsahu mykotoxinů. Zastoupení fuzariózou poškozených zrn se také stanovuje v rámci hodnocení rezistence k fuzarióze klasu u odrůd a šlechtitelských materiálů (Obr. 3). Obvykle se výskyt fuzariózních zrn uvádí jako procentický podíl vzhledem k celkovému počtu zrn. Statisticky významná korelace mezi % fuzariózou poškozených zrn a obsahem DON byla opakovaně prokázána (Dexter a Nowicki, 2003; Mesterházy a kol., 2005; Polišenská a Tvarůžek, 2007; Chrpová a kol., 2012). Těsnost vazby mezi výskytem fuzariózních zrn a obsahem DON je ovlivněna ročníkem, tj. intenzitou infekce.



Obr. 1: Poškození zrn po umělé infekci *F. culmorum* ve vztahu k obsahu DON – odrůda Arina s mírnou rezistencí k fuzarióze klasu



Obr. 2: Poškození zrn po umělé infekci *F. culmorum* ve vztahu k obsahu DON – náchylná odrůda Biscay



Obr. 3: Porovnání fuzariózou poškozených zrn (nahore) s nepoškozenými zrny v rámci hodnocení znaku % fuzariózou poškozených zrn

8. VIZUÁLNÍ HODNOCENÍ POŠKOZENÝCH ZRN

Významnou roli při vizuálním hodnocení fuzáriových zrn hraje zkušenost hodnotícího pracovníka. Na výsledku se může do určité míry projevit i subjektivita hodnocení. Napadená zrna lze dále třídit do několika skupin na základě vnějších symptomů. Polišenská (2008) udává rozdělení do 3 skupin (viz. Obr. 4, Obr. 5, Obr. 6). K těmto 3 skupinám lze ještě přiřadit další skupinu, kterou představují úlomky zrn (Obr. 7).



Obr. 4: Zrna s typicky změněnou barvou (bělavá, narůžovělá) standardně vyvinutá - skupina 1



Obr. 5: Zrna scvrklá, normální barvy, která mohou být odstraněna při propadu na sítích – skupina 2



Obr. 6: Zrna scvrklá, se změněnou barvou (růžová, bělavá nebo šedá zrna), která mohou být odstraněna při propadu na sítích – skupina 3



Obr. 7: Úlomky zrn často jsou odstraněny již při kombajnové sklizni

9. METODY VYUŽITELNÉ PRO AUTOMATIZACI DETEKCE PODÍLU FUZARIÓZNÍCH ZRN VE VZORCÍCH PŠENICE

Vzhledem k velké pracnosti i případné subjektivitě hodnocení jsou rozvíjeny metody, které mohou nahradit vizuální hodnocení poškozených zrn. V současné době již existují i metody, s jejichž pomocí je možné zrna detekovat i odstranit.

V metodice uvádíme příklady metod využitelných pro detekci fuzáriových zrn:

Měření spektrální reflektance: Metoda, kterou vyvinuli Jirsa a kol. (2008) využívá základní tvarové a barevné charakteristiky zrn, které byly podrobeny korelační analýze k obsahu DON. Statistickými metodami (umělé neuronové sítě-ANN, shluková analýza) byly na základě těchto parametrů vytvořeny modely pro predikci obsahu DON. Použitím normalizovaných spekter byly určeny dvě nejvýznamnější oblasti okolo 500 a 730 nm.

Využití radiofrekvenční identifikace v kombinaci s blízkou infračervenou spektroskopií: Příkladem může být využití bonitačních třídiček, kdy technologie třídění zrn podle kvality umožňuje analyzovat a identifikovat každé jádro v dávce zrna a **roztřídit jádra do frakcí s certifikovanou kvalitou** (dle obsahu bílkovin, sklovitosti a **odstranit zrna ovlivněná patogeny rodu *Fusarium***). Rychlost je plně kompatibilní s potřebami průmyslové manipulace se zrnem.

Další informace:

(<http://www.pawlica.cz/novinky/2016/04/21/bonitacni-tridicky-zrn-bomill/>)

Využití FT-NIR spektroskopie: Pomocí FT-NIR spektroskopie s širokým rozsahem koncentrací lze provést rychlé stanovení DON v zrnech pro aplikace využitelné ve šlechtitelských programech a v systémech řízení jakosti. Metoda využívá částečnou kalibraci nejmenších čtverců (PLS) a techniku diskriminační analýzy jako prediktivní model s širokým rozsahem. Tato metoda poskytla přesnější výsledky u vzorků s nižšími koncentracemi DON pod 30 mg/kg (Dvořáček a kol., 2012).

10. NOVĚ VYVINUTÉ METODY PRO DETEKCI FUZÁRIOVÝCH ZRN

V rámci řešení výzkumných projektů **QK1710302** a **FV10213** byly vyvinuty dva přístupy, které rozšiřují spektrum metod využitelných pro detekci fuzáriových zrn:

10.1. Využití přístroje Marvin: přístroj se primárně používá pro stanovení hmotnosti tisíce zrn (HTZ), je schopen spočítat a změřit zrna (délka, šířka, plocha) i stanovit jejich váhu. Přístroj umožňuje také analýzu nepravidelně tvarovaných zrn i determinaci frakcí s různou velikostí zrna. Při měření se využívá digitální kamera ve spojení s elektronickou váhou a softwarovým vybavením.

- Výhodou přístroje je velká rychlost a expeditivnost stanovení.
- Nevýhodou je, že pracuje pouze s velikostí zrna a nezohledňuje barevné změny.

Další informace: http://www.gta-sensorik.com/analyse_1.html

Přístroj je schopen stanovení procentické zastoupení zrn v různých kategoriích podle velikosti zrna. Kategorie představuje poměr délky a šířky zrna.

Pro ověření možnosti využití přístroje Marvin bylo vyhodnoceno 183 vzorků zrna odrůd a novošlechtění pšenice ozimé po umělé infekci *F. culmorum*. Na základě statistického zpracování (Tabulka 1) bylo zjištěno, že statisticky významná kladná korelace je mezi znaky obsah DON a vizuálně stanovené % fuzariózou poškozených zrn a zastoupením zrn v kategoriích WFO-WF4, což představuje velikost zrn ≤ 3 . **Za rizikový lze považovat vzorek, kdy podíl zrn v těchto kategoriích dosahuje 45 % a více (viz. Příloha 1).**

Tabulka 1 Korelace zastoupení zrn v jednotlivých kategoriích s % fuzariózou poškozených zrn a s obsahem DON (mg/kg). Kategorie představuje poměr délky a šířky zrna.

Matice Pearson-Spearman-Kendall

	W-F0(%)≤2,00			W-F1(%)≤2,25			W-F2(%)≤2,50			W-F3(%)≤2,75			W-F4(%)≤3,00		
	r	n	P	r	n	P	r	n	P	r	n	P	r	n	P
% SB Pear Sprm	0,2752	183	0,0002	0,6289	183	0,0000	0,7790	183	0,0000	0,7229	183	0,0000	0,5645	183	0,0000
	0,2440	183	0,0009	0,6312	183	0,0000	0,7550	183	0,0000	0,7207	183	0,0000	0,5829	183	0,0000
DON Pear Sprm	0,3065	182	0,0000	0,5497	182	0,0000	0,6307	182	0,0000	0,5697	182	0,0000	0,4301	182	0,0000
	0,2357	182	0,0014	0,5452	182	0,0000	0,6652	182	0,0000	0,6118	182	0,0000	0,4624	182	0,0000
	W-F5(%)≤3,25			W-F6(%)≤3,50			W-F7(%)≤3,75			W-F8(%)≤4,00			W-F9(%)≤6,00		
	r	n	P	r	n	P	r	n	P	r	n	P	r	n	P
% SB Pear Sprm	0,0534	183	0,4724	-0,6391	183	0,0000	-0,6986	183	0,0000	-0,5783	183	0,0000	-0,3345	183	0,0000
	0,0303	183	0,6837	-0,6307	183	0,0000	-0,7042	183	0,0000	-0,5640	183	0,0000	-0,3196	183	0,0000
DON Pear Sprm	-0,1201	182	0,1063	-0,5834	182	0,0000	-0,5424	182	0,0000	-0,3883	182	0,0000	-0,1285	182	0,0838
	-0,1313	182	0,0773	-0,6092	182	0,0000	-0,5788	182	0,0000	-0,3853	182	0,0000	-0,1117	182	0,1332

% SB = % fuzariózou poškozených zrn

10.2. Obrazová analýza termografických dat: Termokamery zprostředkovávají zobrazení teplotního profilu pozorovaného objektu v širokém teplotním rozsahu s vysokou citlivostí a přesností. Termokamera je schopna zachytit tepelné záření a převést je na termogram (termovizní snímek). Zrna poškozená v důsledku napadení fuzariózou klasu lze detekovat díky rozdílnosti teploty. Termoanalýza pomocí chlazené termokamery prováděná za konstantní laboratorní teploty je schopná detekovat teplotní rozdíly mezi zdravými a infikovanými obilkami na úrovni desetin °C a je tak možné jednoznačně rozlišit zcela zdravé a totálně infikované obilky.

Nicméně, s ohledem na deklarovanou chybu měření $\pm 2^{\circ}\text{C}$ u nechlazených (cenově dostupných) termokamer, je tento přístup na hranici praktické použitelnosti, kdy neumožňuje podrobnější rozlišení stupně napadení.

Nově vyvinutá metoda využívá okamžitého krátkodobého zchlazení obilek s následnou časovou termoanalýzou nechlazenou termokamerou. Celý proces odlišení zdravých a napadených obilek se tak významně zpřesňuje a umožňuje podrobnější rozlišení stupně napadení.



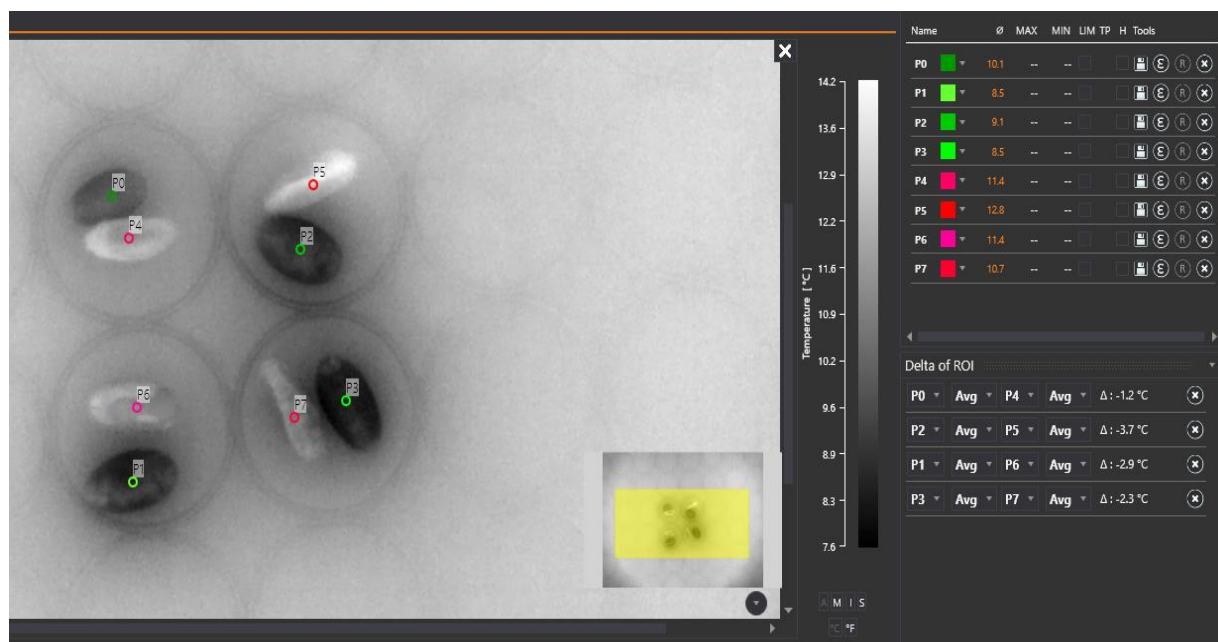
Obr. 8: Termogram směsi zdravých a fuzariózních obilek. Tmavě zobrazené obilky s nižší teplotou jsou zdravé zatímco světle šedé až bílé odstíny obilek indikují vyšší teplotu spojenou s infekcí

Test se provádí pomocí infračervené termografické nechlazené kamery s mikrobolometrickým LWIR senzorem (long-wave infrared v pásmu $7\text{ }\mu\text{m}$ až $14\text{ }\mu\text{m}$) s vysokým rozlišením ($640 \times 512\text{px}$). Při měření je třeba pamatovat na to, že termokamera nestanovuje povrchovou teplotu přímo - vždy je nezbytné zadat parametry měření: tj. emisivitu, odraženou zdánlivou teplotu, aktuální teplotu a vlhkost vzduchu spolu se vzdáleností mezi měřeným povrchem a termokamerou. Ideální je provádět termografický záznam pomocí radiometrického videa s frekvencí snímání 25Hz, alternativně

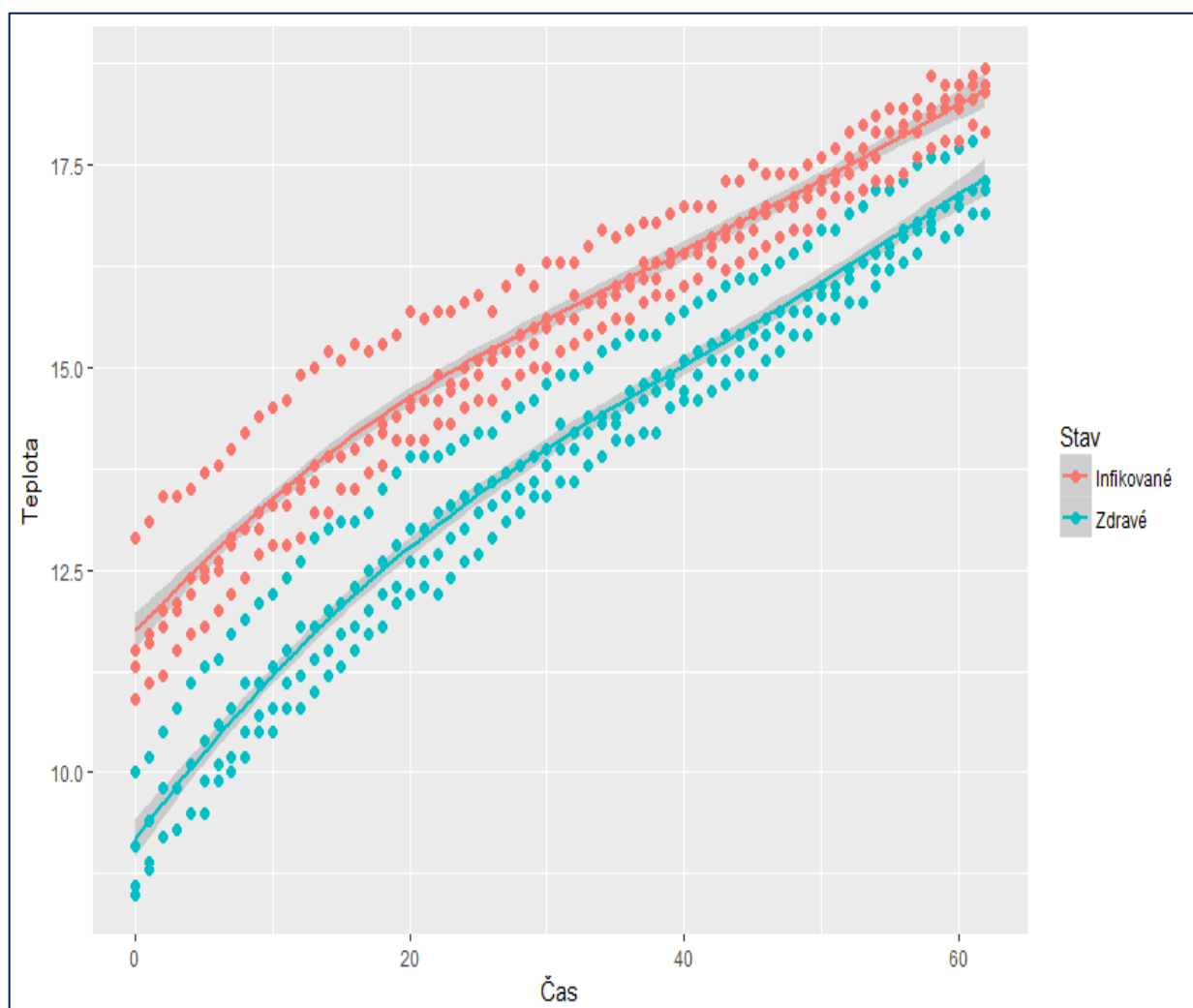
časosběrným snímáním jednotlivých termogramů s co nejvyšší dostupnou frekvencí během 1 minutového testu.

Navržený postup:

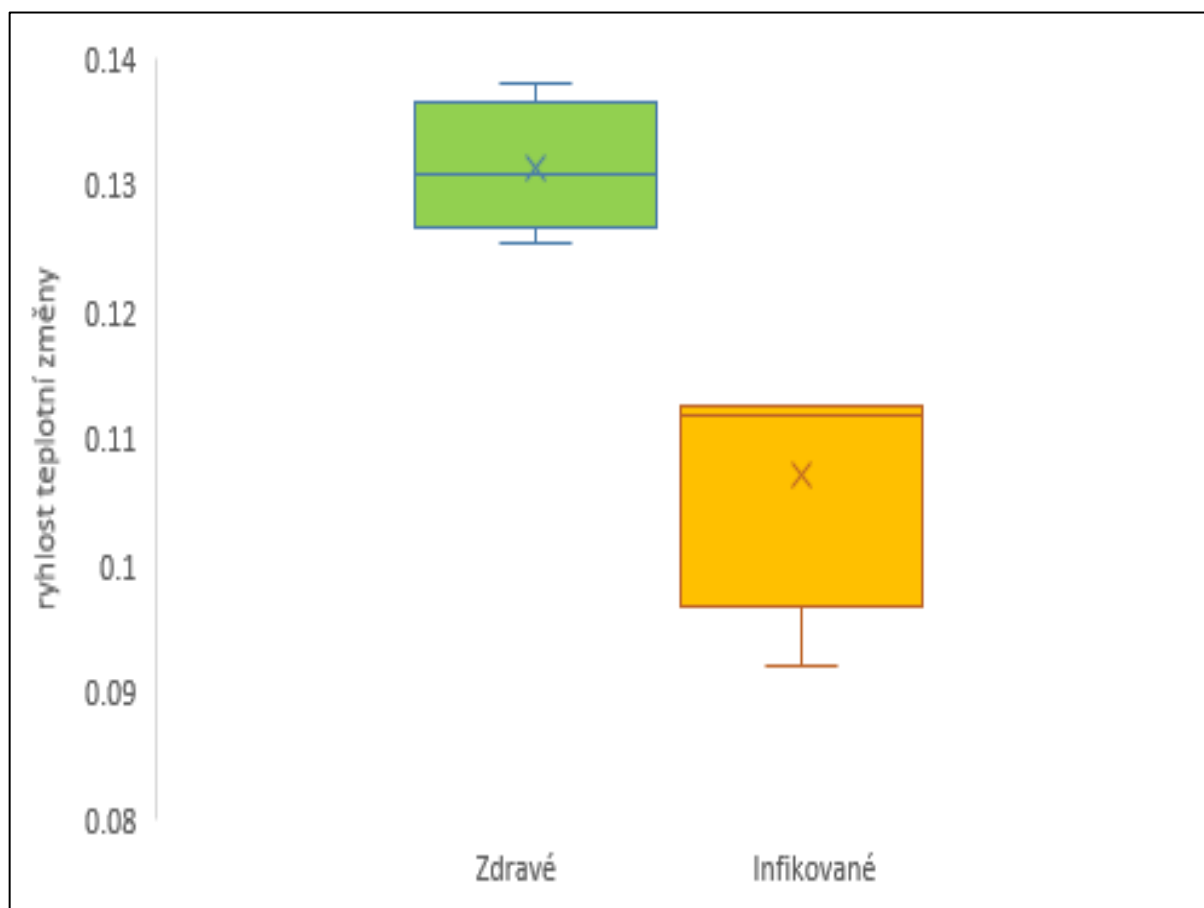
- Samotný vzorek testovaných obilných zrn je žádoucí teplotně homogenizovat pod teplotu okolního vzduchu alespoň o 10°C, kde je měření prováděno.
- Vzorek nesmí být při snímání zakryt křemeným sklem ani žádným jiným materiálem, který není schopen propouštět dlouhovlnné infračervené záření.
- Po akvizici dat jsou v obraze v měřicím programu (CorePlayer nebo Flir ReserchIR) digitálně vyznačeny měřící body na obilkách (Obr. 9). Výsledek je zobrazen jako změna teploty (y) v čase (x) (Obr. 10) resp. statistickou analýzou rozptylu pro stanovení průkaznosti rozdílu jednotlivých partií nebo škálování napadení (Obr. 11) pomocí GLM modulu programu R.
- Boxplot znázorňující statisticky průkazný rozdíl v rychlosti teplotní změny mezi zdravými a infikovanými obilkami je možno využít pro charakteristiku hodnocených vzorků (viz. příloha).



Obr. 9: Bodové zobrazení teplot na zdravých (zelené body) a infikovaných (červené body) obilkách.



Obr. 10: Dynamika teplotní změny (°C) zdravých a infikovaných obílek v průběhu 1 minutového testu



Obr. 11: Boxplot znázorňující statisticky průkazný rozdíl v rychlosti teplotní změny mezi zdravými a infikovanými obilkami

III. Srovnání novosti přístupů

Metody, které mohou nahradit vizuální hodnocení poškozených zrn, představují velký pokrok z hlediska možnosti zhodnotit významně větší množství vzorků v porovnání s vizuálním hodnocením. Obrazová analýza termografických dat může být využita pro automatické snímání zrn kamerou umístěnou nad dopravníkem. Z hlediska bezpečnosti práce je výhodou, že se eliminuje kontakt pracovníků s infikovaným zrnem.

IV. Popis uplatnění certifikované metodiky

Metodika může najít uplatnění ve výkupu, v mlýnech (obrazová analýza termografických dat) nebo ve šlechtitelské praxi (využití přístroje Marvin). Metodika může sloužit také ve výzkumu a na univerzitách.

V. Ekonomické aspekty

Použití nově vyvinutých metod přináší především úsporu pracovní síly. Důležité je porovnání finančních a časových požadavků z hlediska využití pracovních sil (Tab. 1). Do celkového hodnocení není započteno pořízení přístrojové techniky, která má široké využití pro další činnosti: nákup termokamery s dostatečnou citlivostí a softwarového vybavení v ceně cca 100 000 Kč nebo pořízení přístroje Marvin v ceně 297 333 Kč.

Tabulka 2 Porovnání finančních a časových požadavků pro jednotlivé způsoby hodnocení – výpočet pro 100 vzorků při mzdě pracovníka 200 Kč/hod.

Metoda	Časová náročnost (hodiny)	Finanční náklady (Kč)
Vizuálně	25	5000
Marvin	2	400
Termokamera	4	800

VI. Seznam použité literatury

Čonková E., Laciaková A., Štyriak I., Czerwiecki L., Wilczinska G. (2006): Fungal contamination and the levels of mycotoxins (Don and Ota) in cereal samples from Poland and East Slovakia. Czech J. Food Sci., 24: 33-40.

Dexter J.E., Nowicky T.W. (2003): Safety assurance and quality assurance issues associated with Fusarium Head Blight in wheat. In: Fusarium Head blight in Wheat and Barley (K.J. Leonard and W.R. Bushnell eds) pp: 420 – 460, American Phytopathological Society Press: ST Paul MN.

Jirsa O., Babušník J., Klem K., Polišenská I. (2008): Vývoj metody pro screeningová stanovení mykotoxinů v obilovinách. (Development of a method for mycotoxin screening assessments in cereals) Obilnářské listy, 16, 2, s.35-38.

Masaki K., Fukunaga K., Matsusaka M., Kabata H., Tanosaki T., Mochimaru T., Kamatani T. Ohtsuka K., Baba R., Ueda S. et al. (2017): Characteristics of severe asthma with fungal sensitization. Annals of Allergy, Asthma & Immunology, 119 (3): 253-257.

Mesterházy A., Bartók T., Kászonyi G., Varga M., Tóth B., Varga J. (2005): Common resistance to different *Fusarium* spp. causing Fusarium head blight in wheat. *European Journal of Plant Pathology*, 112: 267–281.

Nařízení Komise (ES) č. 1881/2006 z 19. 12. 2006 v platném znění ES č. 1126/2007.

Polišenská I., Tvarůžek L. (2007): Relationships Between Deoxynivalenol Content, Presence of Kernels Infected by *Fusarium* spp. Pathogens and Visually Scabby Kernels in Czech Wheat in 2003-2005. *Cereal Research Communications* 35 (3), pp.1437-1448.

VII. Seznam publikací, které předcházely metodice

Dvořáček V., Prohasková A., Chrpová J., Štočková L. (2012): Near infrared spectroscopy for deoxynivalenol content estimation in intact wheat grain. *Plant, Soil and Environment*, 58 (4): 196 – 203.

Honěk A., Martinková Z., Lukáš J., Dixon A. (2014): Plasticity of the thermal requirements of exotherms and adaptation to environmental conditions. *Ecology and Evolution*, 4 (15): 3103 – 3112.

Chrpová J., Šíp V., Sýkorová S., Sychrová E. (2007): Možnosti snížení rizika napadení obilovin klasovými fuzariózami. Výzkumný ústav rostlinné výroby, 18 s.

Chrpová J., Šíp V., Štočková L., Dumalasová V. (2012): Evaluation of Fusarium Head Blight Resistance in Wheat under High Infection Pressure in Field Conditions, *Cereal Research Communications*, 40 (3): 396 – 404.

Řehořová K., Veškrna O., Horčíčka P., Sedláček T. (2008): Vliv napadení klasu fuzariózami na výnosové a kvalitativní parametry pšenice ozimé a význam rezistence odrůd potravinářské pšenice k fuzariózám. Pšenice – od genomu po rohlík. Aktuální poznatky doktorandů získané ve výzkumných laboratořích a na pokusných pozemcích. Nakladatelství Kurent s.r.o.: 73 – 81. ISBN 978-80-87111-12-3.

číslo vzorku	% zrn velikosti ≤ 3 Marvin	% fuzariozou poškozených zrn	obsah DON (mg/kg)
156	56,4	91,3	181,4
183	44,2	43,6	115,3
35	47,3	51,2	111,5
18	54,1	65,5	110,0
175	51,9	69,8	107,3
40	47,4	59,7	106,1
174	57,4	77,3	102,3
145	54,6	74,8	100,4
177	70,4	83,6	93,8
84	58,1	55,5	93,4
41	55,9	56,5	87,9
39	30,3	53,9	86,0
66	24,1	50,6	85,4
171	59,9	86,1	83,5
148	47,1	71,8	80,7
166	62,1	78,9	79,7
72	37,3	52,6	78,8
146	54	74,8	78,1
96	27,1	44,3	77,5
58	45,4	48,4	75,9
32	30,6	0,0	75,7
170	56,4	75,6	73,9
152	33	67,2	72,1
176	44,5	74,9	71,6
153	43,2	60,9	67,7
173	54,9	88,2	65,7
22	23,5	50,4	65,0
13	28,5	35,8	64,3
42	69,5	43,3	63,7
92	32,1	37,6	63,1
155	56,6	71,2	62,9
21	29,5	46,2	62,7
181	58,7	69,4	62,1
12	40,7	43,6	62,1
161	66	73,3	62,0
144	55	71,8	61,6
75	37,4	47,4	61,5
182	52,5	73,4	61,1
143	38,1	71,9	60,7
27	22,6	37,5	60,3
149	45,6	70,3	58,4
85	35,6	31,1	58,3
162	54,4	74,5	58,2
1	26	38,1	57,4
17	43,4	49,5	57,2

116	43,1	57,7	56,5
34	56,9	49,5	56,2
158	59,7	69,3	55,8
167	58,9	91,7	55,7
172	45	73,0	55,5
80	28,7	38,1	54,4
15	23,7	39,1	54,3
24	44,5	44,9	53,9
88	28	35,8	53,3
159	53,3	66,2	52,3
2	36	36,5	51,1
154	51,8	63,1	50,7
169	42	63,4	50,6
150	35,9	42,7	49,9
70	51,6	39,0	49,1
160	54,5	59,7	48,7
14	24,4	37,0	47,5
81	37,1	29,7	47,3
168	41,7	65,8	47,0
165	55,3	79,9	45,0
55	25,8	37,1	41,7
147	51,5	51,5	41,2
151	54	50,5	40,4
5	16,1	23,1	40,3
68	33,3	43,2	40,2
164	40,2	66,7	39,2
16	19	31,1	38,3
95	45,1	23,3	38,3
36	35,7	26,6	37,4
47	23,9	25,2	36,6
82	25,6	27,9	36,3
179	59,4	48,4	36,1
9	30	28,6	34,5
180	48	43,4	34,3
163	48,1	69,5	34,0
4	29,1	19,2	33,7
7	15,9	26,3	33,5
65	27,3	25,5	32,9
111	25,3	45,0	32,9
119	50,5	45,0	32,9
19	24	35,4	31,4
73	30,6	25,5	31,3
157	50,2	53,4	29,7
71	34,2	23,8	29,1
60	47,6	27,7	28,8
45	20,3	25,2	28,2
128	28,4	46,5	28,1
91	21,6	25,9	27,8
26	34,2	37,1	27,4
110	25,7	36,3	26,9

118	31	36,3	26,9
44	22,3	17,9	26,7
43	32,2	27,2	26,5
134	49,2	44,7	26,3
99	19	24,8	25,6
93	32,9	23,3	25,5
97	64,7	22,9	25,4
79	18,2	24,6	24,8
67	39,3	23,3	23,8
63	45,8	31,3	23,8
6	27,9	22,0	23,7
53	20,3	24,6	23,6
51	16	26,8	23,3
129	34,5	41,6	23,2
23	17,8	26,7	22,0
123	28	26,3	22,0
86	10,8	16,5	21,9
59	24,3	24,2	21,6
178 (mírně rezistentní kontrola)			
	36,4	28,5	21,0
38	28	21,2	20,6
104	18,8	31,4	20,1
107	34,8	36,1	19,3
49	23,9	22,7	19,2
31	36,2	39,7	18,7
57	19,2	17,8	18,5
122	38	32,4	18,1
50	27,9	21,8	17,7
126	42,8	26,8	17,2
90	17,3	19,1	16,5
87	18,9	16,6	16,4
46	22,8	14,4	16,2
137	29,1	34,6	16,1
11	13,8	13,0	15,8
98	19,7	18,7	15,4
89	21,6	15,7	14,7
48	36,2	35,2	14,7
20	16,6	19,4	14,2
37	9,8	9,9	14,1
136	26,4	29,6	14,0
30	16,1	20,5	14,0
100	13,7	8,6	13,5
77	33,2	15,2	13,1
52	32,9	13,6	13,0
108	25,5	23,8	12,9
76	32,7	9,4	12,3
83	14,8	13,8	12,3
8	28,6	13,9	12,2
54	8,6	9,7	11,6

94	22,6	9,4	11,3
138	16,7	35,7	11,2
127	45,3	20,9	11,2
120	23,8	18,9	11,1
125	17,8	25,8	10,5
102	46,7	22,0	10,4
69	10,2	9,3	9,7
109	22	25,4	9,7
124	26,7	22,4	9,6
25	16,6	11,4	9,6
28	12,5	11,5	9,3
103	32,2	27,5	8,4
141	18	18,3	8,0
114	41,9	25,8	7,8
132	53,1	23,5	7,5
61	18,2	8,5	7,5
117	37,6	15,0	6,9
101	26,7	19,0	5,9
113	26,2	12,4	5,6
56	9,2	5,3	5,5
10	16,5	13,5	5,5
29	27,4	10,0	5,2
105	8,1	11,6	5,0
3	12	7,2	5,0
121	28,3	8,8	4,6
115	26,8	12,8	4,6
106	10,4	15,1	4,6
64	11,6	7,4	4,3
131	10,8	10,9	4,2
62	20,7	16,0	4,1
142	12,7	11,3	4,1
140	10,2	23,7	4,0
112	24,1	13,6	3,8
133	48,8	17,6	3,6
130	13,6	5,8	2,7
139	29,4	28,2	2,4
74	31,5	12,9	2,0
78	4,5	0,8	0,7
135	15,4	1,7	0,7
Průměr	33,6	36,2	37,0

rizikové vzorky podle přístroje Marvin

Autoři

Ing. Jana Chrpová, CSc. , Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., 35 %

Mgr. Jana Palicová, Ph.D., Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., 20 %

Ing. Martina Trávníčková, Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., 15 %

Ing. Jan Lukáš, Ph.D., Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., 10 %

Ing. Ondřej Veškrna, Ph.D. , SELGEN a.s., 10 %

Ing. Kamil Horák, BUREAU VERITAS CZECH REPUBLIC, spol. s r.o., 5 %

Ing. Jan Sova, Workswell s.r.o., 5%

Název: Metodika pro detekci zrn napadených patogeny z rodu *Fusarium* u pšenice

Vydal: Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

Drnovská 507, 161 06 Praha 6 - Ruzyně

Redakce: Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

Drnovská 507, 161 06 Praha 6 - Ruzyně

Náklad: 80 výtisků

Vydáno bez jazykové úpravy

Metodika je poskytována bezplatně

Metodika je veřejně přístupná na www.vurv.cz

Kontakt na autora: chrpova@vurv.cz

© Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha, 2018

ISBN 978-80-7427-286-8