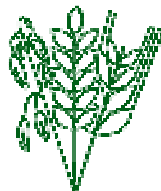


4.3 Redakčně upravená závěrečná zpráva projektu č. QG60047



„Analýza rizika kontaminace obilovin fuzáriovými mykotoxiny studiem kritických faktorů s využitím spektrálních, imunologických a molekulárních metod a predikce napadení klasovými fuzárii“

Výzkumný program MZe 2005 – 2009

Tematický okruh: Produkce a zpracování agrárních produktů

Priorita: Možnosti ovlivnění kvality a bezpečnosti potravinového řetězce

Doba řešení projektu: 1.2. 2006 – 31.12. 2009

ŘEŠITELÉ: RNDr. Ivana Polišenská, Ph.D. – **zodpovědný řešitel**
Dr. Ing. Jaroslav Salava

PŘÍJEMCI: Agrotest fyto, s.r.o. – **příjemce koordinátor**
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

Kroměříž, prosinec 2009

2. Osnova zprávy a její součásti

Oddíl		Str.
1	Titulní list	1
2	Osnova zprávy a její součásti	2
3	Organizace účastníků se projektu	3
4	Řešitelský tým	3
5	Náklady za projekt celkem	3
6	Zhodnocení průběhu řešení	4
6.1	Účel a cíl projektu	4
6.2	Zhodnocení dosažených výsledků	4
6.3	Řešení projektu v roce 2009	5
6.4	Zhodnocení řešení dílčích cílů	12
6.4.1	V001 Vypracování metodiky vizuálního a optického hodnocení bezpečnosti potravinářských obilovin	12
6.4.2	V002 Predikce rizika kontaminace obilovin fuzáriovými mykotoxiny na základě monitoringu infekčního potenciálu a vyhodnocení vlivu počasí a agrotechnických opatření	15
6.4.3	V003 Technický vývoj metody měření spektrálních veličin pro screeningová stanovení obsahu mykotoxinů	18
6.5	Závěrečné shrnutí	19
7	Přílohy – tabulky, obrázky (seznam)	20
8	Dosažené výsledky	20
9	Popis uplatnění	24

3 Organizace účastníků se projektu

Příjemce – koordinátor:

Agrotest fyto, s.r.o., Havlíčkova 2787/121, Kroměříž, 767 01, IČO 25328859, statutární zástupce: Ing. Slavoj Palík, CSc., jednatel – ředitel

Příjemce:

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Drnovská 507, Praha 6–Ruzyně, 161 06, IČO 00027006, statutární zástupce: doc. RNDr. Ing. František Kocourek, CSc., ředitel.

Od 12. 1. 2006 došlo ke změně názvu organizace Agrotest, zemědělské zkušebnictví poradenství a výzkum, s.r.o. na Agrotest fyto, s.r.o.

Ke dni 1.1. 2007 se Výzkumný ústav rostlinné výroby transformoval podle zákona č. 341/2005 Sb. o veřejných výzkumných institucích na veřejnou výzkumnou instituci (zkráceně VÚRV, v.v.i.).

4 Řešitelský tým

Agrotest fyto, s.r.o.

Odpovědný řešitel projektu:

RNDr. Ivana Polišenská, Ph.D.

Další řešitelé:

Dr. Ing. Ludvík Tvarůžek, Mgr. Milan Pouch, Mgr. Iva Burešová, Ph.D., Mgr. Pavel Matušinsky Ph.D., Ing. Renata Mikolášová, Ph.D., Ing. Irena Sedláčková, Ing. Jiří Babušník, Ing. Karel Klem. Řešitelský tým doplňovali další laboratorní a techničtí pracovníci.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

Řešitel projektu

Dr. Ing. Jaroslav Salava

Další pracovník

Mgr. Katarína Čiháková, Mgr. Martina Hujšlová

V organizaci Agrotest fyto, s.r.o. došlo k několika změnám na úrovni dalších řešitelů a technických pracovníků. V roce 2007 byl Mgr. Milan Pouch (další řešitel) převeden na řešení jiných úkolů a nahrazen Ing. Renatou Mikolášovou, Ph.D. a Ing. Jiří Babušník (další pracovník), který ukončil pracovní poměr u organizace, byl nahrazen Ing. Ondřejem Jirsou. V roce 2009 Ing. Karel Klem, Ph.D. (další řešitel) ukončil pracovní poměr u organizace a jeho práci na projektu převzal Mgr. Pavel Matušinsky, Ph.D.

V organizaci Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. se vzhledem k dlouhodobé pracovní neschopnosti Dr. Ing. Salavy v r. 2009 podílela na řešení projektu jako další pracovník Mgr. Martina Hujšlová. Změny neměly negativní vliv na kvalitu práce na projektu.

Na řešení projektu se podílely obě řešitelská pracoviště v naplánovaném rozsahu.

5 Náklady na projekt celkem

Celkové náklady na řešení projektu byly naplánovány ve výši 3208 tis. Kč, z toho osobní náklady ve výši 1453 tis. Kč. Celkové náklady v organizaci Agrotest byly plánovány ve výši 2408 tis., byly překročeny o 1687,- Kč, v zaokrouhlení v nákladové tabulce o 2 tis. Kč v položce osobních nákladů. Tato částka byla hrazena z vlastních zdrojů nositele. Největší

nákladovou položku v organizaci Agrotest činily materiálové náklady na kity na analýzy mykotoxinů, ve službách se promítly zejména polní práce –zakládání, udržování a sklizeň polních pokusů. Náklady za celou dobu řešení v organizaci VÚRV činily 800 tis. Kč. Ve VÚRV byla také hlavní položka tvořena materiálem, a to především chemikáliemi na PCR rozборы. V roce 2007 bylo žádáno pro organizaci Agrotest o přesun finančních prostředků ve výši 20 000 Kč z položky "Služby" do položky "Pořízení HMM". Důvodem přesunu byla nutnost pořízení nových analytických vah, protože dosud používané váhy nevyhověly při kalibrační kontrole a šlo o neodstranitelnou závadu. O změnu bylo požádáno a změna byla schválena. Jinak probíhalo čerpání finančních prostředků v souladu s plánem a uskutečnily se pouze některé drobné změny vyvolané provozními požadavky, které však nepřesahovaly částku nutnou pro podání žádosti o změnu.

6 Zhodnocení průběhu řešení

6.1 Účel a cíl projektu

Účelem projektu bylo přispět k řešení komplexu problémů spojených s predikcí, hodnocením a možností eliminace obsahu fuzáriových mykotoxinů v potravinářských obilovinách identifikováním a studiem rizikových faktorů jejich výskytu.

Řešení projektu vycházelo z praktických problémů při pěstování obilovin a při následném uplatnění produkce zemědělskými prvovýrobcí a skladovateli vzhledem k nutnosti zajištění zdravotní nezávadnosti obilovin. Kritériem bylo dodržování platné legislativy týkající se fuzáriových mykotoxinů. Cílem, ke kterému směřovaly všechny práce v rámci projektu bylo omezení vstupu kontaminovaných obilovin do procesu potravinářského zpracování.

Řešení projektu bylo tématicky rozděleno do tří částí, určených třemi dílčími cíli:

V001 Vypracování metodiky vizuálního a optického hodnocení bezpečnosti potravinářských obilovin:

V002 Predikce rizika kontaminace obilovin fuzáriovými mykotoxiny na základě monitoringu infekčního potenciálu a vyhodnocení vlivu počasí a agrotechnických opatření:

V003 Technický vývoj metody měření spektrálních veličin pro screeningová stanovení obsahu mykotoxinů:

6.2 Zhodnocení dosažených výsledků

Seznam výsledků tříděných podle „Definice druhů výsledků s bodovým ohodnocením“ (od roku 2009 – po zahrnutí schválených Změn struktury RIV od roku 2009 ze dne 20.11.2008) s uvedením odkazu na jejich registraci v registru výsledků jsou uvedeny v části 8 Dosažené výsledky na str. 20.

Byly vypracovány publikace v impaktovaných a recenzovaných časopisech a řešitelé projektu se aktivně účastnili vědeckých konferencí a seminářů, kde prezentovali dosažené výsledky výzkumu. Vzhledem k poslání projektu jsou řešitelé jako velmi cenné považovány také bodově nehodnocené výsledky projektu, které však přímo směřují k naplnění cíle projektu, a

to k omezení zatížení populace mykotoxiny. Přednášková činnost a publikace v oblíbených a zemědělci akceptovaných časopisech (Úroda, Farmář, Agro) byly zaměřeny k transferu informací získaných řešením projektu přímo k jejich uživatelům. Jednalo se např. o výsledky směřující k důslednému uplatňování nedávno zavedené legislativy pro limity fuzáriových mykotoxinů v obilovinách (nařízení EK č. 1881/2006), tj. informace získané na základě predikce výskytu mykotoxinů v rámci řešení dílčího cíle V002, objektivní data o účinnosti fungicidní ochrany, agrotechnické poznatky využitelné pro systém správné zemědělské praxe vedoucí k eliminaci výskytu mykotoxinů a další.

S využitím výsledků projektu byly každoročně vypracovávány Odborné studie pro Státní zemědělský intervenční fond (SZIF) (výsledky [12],[13],[14]), kde byl pro SZIF navržen na základě objektivní analýzy rizika výskytu fuzáriových mykotoxinů v daném roce způsob kontroly kontaminujících látek v obilovinách nabízených do intervenčního nákupu.

V současnosti jsou u nás, stejně jako v ostatních zemích EU, limitovány dva fuzáriové mykotoxiny, a to deoxynivalenol (DON) a zearalenon (ZEA). Nejvíce literárních údajů týkajících se rizikových faktorů výskytu je známo pro DON, v praxi však dostupná preventivní opatření nejsou vždy dodržována. Jak vyplývá z výsledků řešení projektu, ke zvýšenému výskytu mykotoxinů vede zejména kombinace rizikových faktorů. U analyzovaných vzorků z praxe s vysokým obsahem DON byl vždy identifikován alespoň jeden rizikový faktor, častěji však více.

V rámci projektu bylo v laboratoři Agrotestu analyzováno pomocí imunochemických metod (ELISA) velké množství vzorků, a to jak obilovin sklizených farmáři na provozních plochách tak z polních pokusů. Umožnilo to získat cenné zkušenosti s aplikací těchto metod a provést srovnávací studie s HPLC pro DON i pro ZEA. Ukázalo se, že ačkoliv tyto metody jsou považovány za screeningové, lze jejich správnou aplikací získat výsledky s velmi dobrou přesností, správností, reprodukovatelností a nízkým detekčním limitem. Vzhledem ke své citlivosti jsou však velmi náročné na dodržování zásad správné laboratorní praxe, zejména podmínek prostředí, kalibraci a validaci zařízení a na erudici laboratorního personálu. Prodej kitů „ready to use“ pro laboratorní použití svádí k tomu, že tyto analýzy mohou být prováděny bez potřebného laboratorního zázemí a bez kontroly kvality produkovaných výsledků. Častou chybou a příčinou rozdílu mezi výsledky získanými pomocí imunochemických a chromatografických metod také bývá kvantitativní interpretace výsledků, ležící mimo rozsah kvantifikace použitých kitů. Je třeba vždy zohlednit deklarovaný limit detekce i hodnotu nejvyššího standardu kitu a v případě výsledků nad nebo pod tyto hranice analýzy opakovat za použití kitu s jiným detekčním limitem nebo analyzovat ředěné vzorky.

Projekt umožnil provést průzkum výskytu druhů *Fusarium* na pšenici a ječmeni v ČR a sledovat jeho změny v průběhu 4 let. Celkem bylo aplikací molekulárních metod analyzováno 240 vzorků pšenice a 190 vzorků ječmene. Je známo, že dlouhodobá sledování výskytu patogenů jsou velmi cenná, zejména vzhledem k tomu, že umožní identifikaci závislostí na klimatických podmínkách a umožní predikci do budoucna.

6.3 Řešené aktivity v roce 2009

Na poslední rok řešení bylo naplánováno 6 aktivit, které navazovaly na řešení v předchozích letech a byly tak doplněny potřebné podklady pro řešení dílčích cílů projektu.

- A901 – Získání dostatečného množství vzorků s požadovanými parametry

- A902 – Analýza vztahů mezi vizuálním hodnocením fuzariózních zrn, obsahem mykotoxinů a přítomností patogenů *Fusarium* spp. pro vzorky obilovin definovaných vlastností
- A903 – Ověření metod analýzy obrazu pro automatizaci detekce podílu fuzariózních zrn ve vzorcích pšenice
- A904 – Stanovení dynamiky uvolňování askospor *F. graminearum* s využitím lapače spor s aktivním nasáváním
- A905 – Určení pěstitelských i klimatických faktorů ovlivňujících kontaminaci zrna mykotoxiny
- A906 – Měření a vyhodnocení křivek spektrální odrazivosti zrna s odlišnou úrovní kontaminace deoxynivalenolem. Vyhodnocení citlivých vlnových délek a vytvoření modelu predikce na principu trénování neuronové sítě.

6.3.1 Aktivita A901 - Získání dostatečného množství vzorků s požadovanými parametry

METODIKA

Analýzy obsahu mykotoxinů DON a ZEA byly prováděny kvantitativní imunochemickou metodou ELISA. Limit detekce (LOD) pro stanovení DON při použití kitů a metodiky Ridascreen® FAST DON je pro pšenici 54 µg/kg, limit kvantifikace (LOQ) 167 µg/kg; pro stanovení DON v ječmeni je LOD 12 µg/kg a LOQ 42 µg/kg. Pro zjištění nižších koncentrací DON byla použita metodika Ridascreen® DON s LOD 17 µg/kg. Pro stanovení ZEA je jako LOD uvažována koncentrace nejmenšího standardu, tj. 1,75 µg/kg. Pro obě metodiky je stanovena výtěžnost, metoda pro stanovení DON je akreditována. Přesnost a správnost stanovení v laboratoři je pravidelně ověřována účastí v kruhových testech FAPAS®.

Podíl vizuálně fuzariózních zrn (VFZ): Jako VFZ byla hodnocena zrna, která jsou po povrchu jakoby potřena bílou křídou, ať už drobná a scvrklá zrna nebo zrna normální velikosti, příp. zrna nápadně lehká; která často bývají také zbarvena růžovým nádechem. Pro účely projektu byla VFZ u vybraných vzorků dále tříděna do několika skupin na základě vnějších symptomů podle vlastní kategorizace: U pšenici do tří kategorií: VFZ1 – zrna s typicky změněnou barvou (bělavá, narůžovělá) standardně vyvinutá (obr.1); VFZ2 – zrna scvrklá, normální barvy (obr.2) a VFZ3 – zrna scvrklá, se změněnou barvou (růžová, bělavá nebo šedá zrna) (obr. 3). U ječmene byla napadená zrna tříděna pouze do dvou kategorií: VFZ1 – zrna se změnou barvy typickou pro patogeny *Fusarium* (narůžovělá, lososová), VFZ2 – zrna s jinou změnou barvy (výrazně zahnědlé špičky, bělavá).

Stanovení druhů patogenů *Fusarium*: Determinace *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum* a *F. poae* byla prováděna na řešitelském pracovišti VÚRV, v.v.i. (pšenice) a v molekulární laboratoři Agrotestu (ječmen) molekulárními metodami. DNA byla extrahována s využitím kitu DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) podle metodiky výrobce. Specifické primery pro jednotlivé druhy *Fusarium* byly použity podle výsledků, které publikovali Schilling *et al.* (1996) pro *F. culmorum* a *F. graminearum*, Turner *et al.* (1998) pro *F. avenaceum* a Parry & Nicholson (1996) pro *F. poae*.

K hodnocení napadení klasů klasovými fuzárii (FHB–*Fusarium* head blight) byla používána modifikovaná desetibodová stupnice Horsfall-Baretta. Většina pšenic pěstovaných v našich podmínkách má 19–20 klásků na klas. Z toho je odvozeno, že jeden napadený klásek představuje 5 % napadení, 2 klásky 10 % napadení atd. Následující třídy představují snadnější

hodnocení mezi 1/3, 1/2 a 2/3 napadeného klasu. Poslední tři třídy charakterizují stav infekce, kdy zbývá zdravých 3, 2–1 a žádný klásek (tab. 1). Napadení je udáváno v procentech.

Získané údaje byly statisticky zpracovávány v programech Excel a STATISTICA.

VÝSLEDKY

Byly získány 3 typy vzorků:

i) Vzorky potravinářské pšenice a sladovnického ječmene z ČR

Vzorky potravinářské pšenice a sladovnického ječmene jsou získávány v rámci spolupráci na řešení projektu QG 50041 – „Faktory kvality a bezpečnosti potravinářských obilovin“. Jde o vzorky od prvovýrobců z celé ČR s údaji o lokalitě původu, předplodině a datu sklizně. Všechny vzorky potravinářské pšenice (cca 1000) jsou vizuálně analyzovány s ohledem na obsah viditelně fuzariózních zrn (VFZ) a z nich je vybráno 60 vzorků s různým obsahem VFZ pro další analýzy. Ze sladovnického ječmene (cca 450 vzorků) je proveden výběr 50 vzorků na základě významnosti odrůdy a lokality. Jako v předchozích letech byly vybírány ječmeny odrůd Bojos, Jersey, Prestige a Tolar pěstované v oblastech určených kraji Jihomoravským, Zlínským, Olomouckým, krajem Vysočina a Středočeským. U 60 vzorků pšenice a 50 vzorků ječmene se známým obsahem DON (u 60 vzorků pšenice také ZEA) byly molekulární metodou určeny druhy *Fusarium*, přítomné na znu. Byly determinovány druhy *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum* a *F. poae*. Byl zhodnocen obsah VFZ.

ii) Vzorky ozimé pšenice a jarního ječmene z polních pokusů s kombinací vlivu předplodiny a zpracování půdy – přirozená infekce.

Polní pokus s parcelami 10 m², čtyři opakování, přirozená infekce. Pšenice: Odrůda Sulamit, 48 vzorků (analyzováno ve 4 opakováních) – předplodina vojtěška, kukuřice a hrách ve variantách orba 22 cm, orba 15 cm, diskování 10 cm a bezorebné setí. V polním pokusu bylo hodnoceno napadení klasovými fuzárii, po sklizni druhy *Fusarium*. Odrůdy Acteur Cubus a Meritto, předplodiny kukuřice, ječmen a vojtěška, 12 vzorků. Odrůda Sultan, předplodina pšenice a saflor, varianty orba a kypření (16 vzorků, analyzováno ve 4 opakováních). Ječmen: Bojos, předplodina kukuřice a cukrovka, varianty orba a kypření (16 vzorků, analyzováno ve 4 opakováních). U všech vzorků byl analyzován obsah DON a VFZ.

iii) Vzorky ozimé pšenice a jarního ječmene pěstované v podmínkách umělé inokulace patogeny *Fusarium* spp. a různým fungicidním ošetřením.

Byla používána stále stejná metoda produkce inokula (*F. culmorum*) i inokulace. Pšenice: Odrůda Karolinum, 4 fungicidy + neošetřená kontrola, 3 termíny aplikace. Ječmen: Odrůdy Prestige a Sebastian, 3 fungicidy + neošetřená kontrola. U všech vzorků byl hodnocen obsah DON a VFZ, u některých obsah ZEA a druhy *Fusarium*.

Zhodnocení: Byl získán dostatečný počet vzorků požadovaných vlastností pro plnění dílčích cílů V001, V002 a V003.

6.3.2 Aktivita A902 – Analýza vztahů mezi vizuálním hodnocením fuzariózních zrn, obsahem mykotoxinů a přítomností patogenů *Fusarium* spp.

i) Vzorky potravinářské pšenice z ČR, 2009

Na obsah VFZ a složení druhového spektra patogenů *Fusarium* bylo v roce 2009 analyzováno 60 vzorků potravinářské pšenice pocházející z ČR se známým obsahem DON a ZEA. Výsledky jsou uvedeny v tab. 2. Korelační koeficient mezi DON a ZEA byl statisticky vysoce

průkazný (0,69), stejně jako mezi DON a VZF (0,79) a ZEA a VFZ (0,66) (tab. 3). V případě ZEA byly korelace počítány pro 52 vzorků, 8 vzorků mělo obsah ZEA negativní (pod LOD). Tento fakt se také mohl podílet na slabších korelacích ZEA s VFZ. Nejčastěji (na všech 60 vzorcích pšenice) byl zjištěn druh *F. graminearum*, téměř stejně často však bylo zjištěno *F. culmorum* (na 59 vzorcích). Oba jsou producenty DON i ZEA, což vysvětluje velmi dobrou korelaci obsahu obou těchto toxinů s vizuálními symptomy.

ii) Vzorky ozimé pšenice a jarního ječmene z polních pokusů s kombinací vlivu předplodiny a zpracování půdy – přirozená infekce.

ii A) Pšenice Sulamit, různá předplodina a zpracování půdy, přirozená infekce

Bylo analyzováno 48 vzorků odrůdy ozimé pšenice Sulamit, po předplodině kukuřici, hrachu a vojtěšce ve variantách orba 22 cm, orba 15 cm, diskování a bezorebné setí. Každá varianta byla hodnocena ve čtyřech opakováních. Výsledky analýz obsahu DON, podílu jednotlivých kategorií VFZ a určení druhů *Fusarium* spp. jsou shrnuty v tab. 4. V roce 2009 byl pozorován velmi intenzivní výskyt patogenů *Fusarium*, na všech vzorcích bylo zjištěno současně *F. graminearum* i *F. culmorum*. *F. poae* a *F. avenaceum* se vyskytovalo sporadicky bez souvislosti s předplodinou či zpracováním půdy. Byl zjištěn statisticky průkazný vztah mezi obsahem DON a obsahem fuzariózních zrn (kategorie VFZ1 a suma VFZ) i napadení klasovými fuzárii (index FHB) (tab. 3).

ii B) Ozimá pšenice Sultan, předplodina pšenice a saflor, varianty orba a kypření (16 vzorků, analyzováno ve 4 opakováních).

Výsledky analýz obsahu DON a VFZ v jednotlivých kategoriích jsou shrnuty v tab. 5. V tomto pokuse byla velmi nízká úroveň obsahu DON, kladná průkazná korelace byla zjištěna jen pro zrna VFZ3 (tab. 3).

iii) Vzorky ozimé pšenice a jarního ječmene pěstované v podmínkách umělé inokulace patogeny *Fusarium* spp. a různým fungicidním ošetřením.

iii A) Ozimá pšenice Karolinum

Ozimá pšenice odrůdy Karolinum byla inokulována ve fázi plného kvetení. Fungicidy byly aplikovány ve třech termínech: 7 dní před termínem inokulace (T1), v termínu inokulace (T2) a 7 dní po termínu inokulace (T3). Použité fungicidy a jejich dávky jsou spolu s hodnocením napadení klasů FHB a výsledky analýz obsahu DON, ZEA a VFZ tříděných do jednotlivých kategorií uvedeny v tab. 6. Byla zjištěna velmi těsná závislost ($p=0,01$) mezi DON a: celkovým obsahem VFZ (korel. koef 0,87), VFZ1 (0,81), VFZ2 (0,84), ZEA (0,70) a FHB (0,75).

iii B) Jarní ječmen Prestige a Sebastian

Odrůdy jarního ječmene Prestige a Sebastian byly inokulovány 5 dní po vymetání (BBCH 59-61). Fungicidy byly aplikovány den před infekcí. Použité fungicidy a jejich dávky jsou spolu s výsledky analýz obsahu DON a VFZ tříděných do jednotlivých kategorií uvedeny v tab 7. Korelace mezi DON a VFZ byly neprůkazné (tab. 8).

Zhodnocení aktivity A902: V letošním roce byla závislost mezi obsahem DON a celkovým obsahem viditelně fuzariózních zrn (Σ VFZ) těsná ve všech hodnocených skupinách vzorků pšenice (tab. 3). Vysoce průkazná závislost DON s celkovým obsahem VFZ je dána zejména dobrou korelací s kategorií VFZ1. Výjimku tvořila velmi slabě napadená odrůda Sultan, kde byla zjištěna pouze průkazná korelace s obsahem fuzariózních zrn silně napadených (VFZ3). Byly zjištěny také vysoce průkazné korelace s FHB. Dobré korelace mezi vizuálními projevy

napadení patogeny *Fusarium* spp. a obsahem DON souvisí také se spektrem identifikovaných druhů *Fusarium* – na všech vzorcích bylo přítomno *F. graminearum* a *F. culmorum*, producenti DON.

U ječmene jsou vizuální projevy napadení zm patogeny *Fusarium* jiné než u pšenice a velmi často nezřetelné. Závislost mezi obsahem DON a VFZ nalezena nebyla.

6.3.3 Aktivita A903 – Ověření metod analýzy obrazu pro automatizaci detekce podílu fuzariózních zrn ve vzorcích pšenice

METODIKA

Snímky byly pořizovány digitální zrcadlovkou Canon EOS 20D s makroobjektivem a kruhovým bleskem, jednotlivá zrna byla umístěna na černé pozadí. Analýza získaných obrazů byla prováděna v programu Sigma Scan Pro verze 5.0 (SPSS, Inc.) a Longboard™ (ImagingPlanet/Optronics, USA; pořízen z prostředků projektu v roce 2008). Sledovány byly základní tvarové a barevné charakteristiky, které byly podrobeny korelační analýze k obsahu DON. Statistickými metodami (umělé neuronové sítě-ANN, shluková analýza) byly základě těchto parametrů hledány modely pro predikci obsahu DON.

VÝSLEDKY 2009

Byla ověřována možnost posouzení kontaminace celých zrn ozimé pšenice fuzariiovými mykotoxiny pomocí metody analýzy obrazu digitálních snímků zrn. V roce 2009 bylo podle plánu dokončeno zpracování vzorků a snímků z roku 2008 analýzou obrazu, byly provedeny korelace získaných parametrů se známým obsahem DON a celkové shrnutí získaných výsledků (viz kapitola 6.4 Zhodnocení dosažených výsledků, DC V001).

6.3.4 Aktivita A904 – Stanovení dynamiky uvolňování askospor *F. graminearum* s využitím lapače spor s aktivním nasáváním

METODIKA

V roce 2009 byla řešena aktivita shodná s předcházejícími roky, tj. získání informací o časové dynamice koncentrace askospor ve vzduchu v podmínkách s vysokou pravděpodobností infekce (zbytky kukuřičné slámy) v souvislosti s povětrnostními podmínkami a navíc vyhodnocení výskytu askospor za celé sledované období (2006-2009) včetně vlivu počasí a růstové fáze pšenice. Práce v této etapě jsou shodné jako v předchozích letech řešení včetně použitého přístroje a metodiky – byl používán aktivní lapač spor, který umožňuje týdenní záchyt spor na nekonečný PVC pásek. Porost pšenice ozimé byl založen po předplodině kukuřici, jejíž zbytky byly na pozemku rozdraceny a zaorány hlubokou orbou. Lapač spor byl umístěn do porostu před vymetáním. Korelace mezi dynamikou uvolňování askospor vztaženou k růstovým fázím obilovin, nejvýznamnějšími parametry průběhu povětrnosti, napadením klasovými fuzárii a obsahem mykotoxinů jsou zjišťovány na základě údajů z celé doby řešení. Vzorky pro získání hodnot obsahu mykotoxinů pro analýzu těchto vztahů jsou voleny tak, aby pokud možno charakterizovaly daný ročník, tj. je použito více hodnot určených předplodinou, zpracováním půdy a odrůdou z lokality Kroměříž.

VÝSLEDKY

Při umístění lapače 14. 5. (Cubus: BBCH 37) byla pozorována perithecia (obr. 4) s nezralými askosporami (obr. 5). V době, kdy Cubus metal, spory začínaly dozrávat. Během kvetení byla perithecia zralá, spory se uvolňovaly a byly zachyceny na pásce lapače (27. 5.). Příklad zralých askospor je na obr. 6. Pro zajištění více údajů nutných k hodnocení úrovně obsahu

mykotoxinů na dané lokalitě je stejně jako v předchozích letech hodnocen obsah DON u odrůd Akteur, Cubus a Meritto (tab. 9) v dlouhodobém pokusu s ozimou pšenicí, kde je přesně zachovávána agrotechnika i odrůdové složení v průběhu let.

6.3.5 Aktivita A905 – Určení pěstitelských i klimatických faktorů ovlivňujících kontaminaci zrna mykotoxiny

METODIKA

Na vzorcích získaných v rámci řešení aktivity A901 byl sledován vliv počasí, předplodiny, zpracování půdy a fungicidního ošetření na obsah mykotoxinů, spektrum patogenů *Fusarium* a obsah fuzariózních zrn.

VÝSLEDKY

Charakteristika vegetační sezóny 2009

V roce 2009 v Kroměříži většina odrůd ozimé pšenice odkvetla v období mezi 26. květnem a 3. červnem, podstatné pro výskyt klasových fuzárií bylo tedy období od 19. května do 13. června. Téměř po celou dobu byly zaznamenávány srážky nad úroveň normálu, v některých dnech velmi výrazně a s výjimkou několika prvních dnů byly teploty pod úroveň normálu (obr. 7). Rok 2009 byl z hlediska počasí pro rozvoj klasových fuzárií příznivý.

i) vzorky ČR

Minimální hodnota obsahu DON ve vybraném souboru vzorků pšenice činila 20 µg/kg, maximální hodnota 13751 µg/kg. Průměr činil 1315 µg/kg, přičemž převažovaly nižší hodnoty (medián 327 µg/kg). Jednalo se o velmi různorodý soubor, zastoupeno bylo 25 odrůd, vzorky pocházely z 11 krajů ČR, jako předplodina bylo udáváno 10 různých plodin. Nejčastěji, a to na všech 60 vzorcích pšenice, byl zjištěn druh *F. graminearum*, ale téměř stejně často bylo zjištěno *F. culmorum* (na 59 vzorcích). Nebyl zjištěn ani jeden vzorek pšenice, na kterém by nebyl přítomen některý ze sledovaných patogenů *Fusarium*, na každém ze vzorků pšenice byly přítomny minimálně dva různé druhy *Fusarium* (tab. 10) a na 10 vzorcích byly zjištěny všechny 4 analyzované druhy současně. Tomu odpovídá vysoká úroveň výskytu DON i ZEA ve sledovaném souboru vzorků. 18 vzorků ve sledovaném souboru mělo obsah DON nad současně platný limit 1250 µg/kg, u všech těchto vzorků byla přítomnost *F. graminearum* označena jako velmi intenzivní (+++). *F. culmorum* se u pšenice nevyskytovalo tak hojně v žádném z předchozích sledovaných let, jeho maximální výskyt byl dosud zaznamenán v roce 2008, a to u 23 % vzorků. Velmi hojně bylo také *F. avenaceum*, bylo nalezeno na 43 % vzorků. *F. avenaceum* je známo jako druh, kterému vyhovuje chladnější klima. Rozdíly mezi frekvencemi výskytu patogenů *Fusarium* pro jednotlivé předplodiny byly testovány Pearsonovým chí kvadrát testem. Rozdíly nebyly pro vzorky roku 2009 nalezeny.

Výskyt patogenů *Fusarium* na ječmeni (tab. 11 a 12) se v letošním roce lišil od ročníků předcházejících zejména hojnou přítomností *F. graminearum*. Zatímco v roce 2008 bylo *F. graminearum* přítomno na 8 % vzorků, v letošním roce na 96 % vzorků. *F. graminearum* nebylo nalezeno pouze u 2 vzorků s nejnižším obsahem DON. *F. poae* se vyskytovalo na 94 % vzorků, *F. avenaceum* na 82 % vzorků. V roce 2009 byl u sledovaných vzorků ječmene velmi vysoký obsah DON, nejvyšší ze sledovaných let. 13 vzorků mělo obsah DON vyšší než 1250 µg/kg.

ii) Bylo analyzováno 48 vzorků odrůdy ozimé pšenice Sulamit, pěstované na jedné lokalitě, po předplodině kukuřici, hrachu a vojtěšce, v každé předplodině byly čtyři různé zpracování

půdy (bez orby, disk10 cm, orba 15 cm a orba 22 cm). Průměry DON, VFZ a indexu napadení pro různé předplodiny jsou uvedeny v tab. 4. Statisticky průkazně nejvyšší hodnoty DON byly zjištěny pro předplodinu kukuřici (průměr 612 µg/kg), nejnižší po předplodině vojtěšce (139 µg/kg). Tomu odpovídaly i hodnoty VFZ1, Σ VFZ a FHB. Z (obr. 8) je zřejmé, jak velký vliv na DON, FHB i obsah VFZ má kukuřice jako předplodina. Průměrně pro všechny předplodiny byl obsah DON byl nejnižší ve variantách orba 15 cm a orba 22 cm, tomu odpovídalo i nejnižší napadení FHB a obsah VFZ. Na vzorcích ze všech variant se vyskytovalo *F. graminearum* a *F. culmorum*, což odpovídá situaci v letošním roce. *F. avenaceum* bylo zjištěno 2x ve variantě s hlubokou orbou (po hrachu a po vojtěšce) a jednou ve variantě bez orby (po hrachu). *F. poae* bylo nalezeno 4x, a to 2x po kukuřici (bez orby, disk), 1x po hrachu (orba 15 cm) a 1x po vojtěšce (orba 22 cm).

Výsledky pokusu se třemi odrůdami ozimé pšenice (Acteur, Cubus, Meritto) po třech předplodinách jsou shrnuty v tab. 9. Obsah DON i VFZ1 byl nejvyšší po kukuřici pro všechny tři sledované odrůdy.

V tab. 5 jsou shrnuty výsledky pokusu s ozimou pšenicí Sultan pěstovanou po předplodině pšenici a safloru ve variantách orba a kypření. V pokusu byl celkový nízký obsah DON, jednotlivé varianty se mezi sebou průkazně nelišily. Na všech vzorcích bez ohledu na varianty bylo identifikováno *F. graminearum* a *F. poae*, *F. culmorum* ani *F. avenaceum* nalezeno nebylo na žádném vzorku.

iii) Ozimá pšenice Karolinum byla pěstována v Kroměříži po předplodině řepce v podmínkách inokulace (provedena 27.5. 2009 – fáze plného kvetení, *F. culmorum*). Byly aplikovány přípravky Amistar (čistý strobilurin), Fandango (strobilurin + triazol), nový přípravek Swing Top (strobilurin + triazol) a Horizon (triazol), všechny v doporučených dávkách. Aplikace fungicidů s různými účinnými látkami byly prováděny ve třech termínech – sedm dní před infekcí (T1), při infekci (T2) a sedm dní po infekci (T3). Během vegetace bylo hodnoceno napadení klasů (10 klasů na variantu, 2.7., vosková zralost), po sklizni byl stanoven obsah DON a bylo provedeno hodnocení obsahu VFZ včetně třídění do jednotlivých kategorií (tab. 6). Umělá infekce v tomto pokuse byla úspěšná, průměrný obsah DON u neošetřených kontrol byl vysoký (29438 µg/kg). Nejlepší účinnosti na obsah DON bylo dosaženo aplikací kombinovaného přípravku Fandango aplikované v T1 (redukce obsahu DON o 97 %). Dobrou účinnost projevila také Swing Top (redukce DON o 70 %) aplikovaný v T3 a triazol Horizon (redukce DON o 69 %) v T1. Z přípravků měl nejslabší efekt Amistar, a to ve všech třech termínech, zejména v termínu T3, kdy úroveň obsahu DON byla srovnatelná s neošetřenou kontrolou. V pokusu byla hodnocena také přítomnost patogenů *Fusarium*. Bylo zjištěno jak *F. culmorum* použité pro inokulaci, tak běžné *F. graminearum*. Mezi variantami nebyly zjištěny konzistentní rozdíly v intenzitě přítomnosti *F. culmorum* a *F. graminearum*. Jejich přítomnost byla hojná ve všech variantách, což však odpovídalo vysokému napadení v celém pokusu díky inokulaci (*F. culmorum*) a příznivým klimatickým podmínkám.

Jarní ječmen odrůd Sebastian a Prestige byl pěstován v podmínkách inokulace (*F. culmorum*), která byla provedena 5 dní po vymetání (BBCH 59-61). Fungicidy byly aplikovány den před infekcí. Použité fungicidy a jejich dávky jsou spolu s výsledky analýz obsahu DON a VFZ tříděných do jednotlivých kategorií uvedeny v tab. 7. Nejvyšší obsah DON byl zaznamenán u kontroly odrůdy Sebastian (5993 µg/kg), odrůda Prestige měla v kontrole obsah DON o něco menší (3535 µg/kg). Na odrůdě Sebastian byla také pozorována vyšší účinnost všech použitých přípravků, použití Prosara redukovalo obsah DON o 66 %, aplikace Swingu o

52 %. Na odrůdě Prestige se nejlépe projevil fungicid Swing (redukce DON o 39 %), Prostaro redukoval DON o 31 %. Nejmenší účinnost na obou odrůdách měl čistý strobilurin Amistar.

6.3.6 Aktivita A906 – Měření a vyhodnocení křivek spektrální odrazivosti zrna s odlišnou úrovní kontaminace deoxynivalenolem. Vyhodnocení citlivých vlnových délek a vytvoření modelu predikce na principu trénování neuronové sítě.

METODIKA

Pro měření spektrální reflektance byl využíván spektrofotometr Avantes S2000, což je systém s přívodem detekovaného signálu od vzorku k detektoru prostřednictvím optického vlákna. K měření byla použita měřicí komůrka s umělým zdrojem světla (halogenová lampa) a měřicí plochou kruhového tvaru o průměru jeden centimetr. Křivky spektrální reflektance byly získány v rozsahu 300 až 1100 nm při integrační době 80 ms jako průměr pěti scanů. Vzorky celých zrn a šrotů byly měřeny volně sypané ve skleněné misce a byla provedena čtyři měření. Pro statistickou analýzu byl počet datových bodů redukován (krok 10 nm) a vypočtena průměrná spektra z opakovaných měření. Spektra byla dále matematicky upravena normalizací nebo derivací. Hodnoty reflektance při jednotlivých vlnových délkách byly korelovány se známým obsahem DON a VFZ.

VÝSLEDKY

V roce 2009 bylo podle plánu prováděno měření spektrální odrazivosti na souborech vzorků zrna pšenice (provozní vzorky, jednodrůdové soubory) a ječmene (jednodrůdové soubory) se známým a diferencovaným obsahem deoxynivalenolu (DON), bylo dokončeno skenování vzorků z předchozí sklizně a statistické hodnocení. Získané křivky byly vyhodnoceny pomocí korelační analýzy, přičemž byla vybrána nejcitlivější pásma a byl vytvořen kalibrační model pro predikci obsahu DON na základě parametrů spektrální odrazivosti. Byl vyhodnocen vliv ročníku na charakter spekter. Souhrnné výsledky jsou uvedeny v části 6.4 v oddílu 6.4.3 Zhodnocení dílčího cíle V003.

6.4 Zhodnocení dílčích cílů:

6.4.1 V001 Vypracování metodiky vizuálního a optického hodnocení bezpečnosti potravinářských obilovin

Řešení tohoto dílčího cíle spočívalo na dvou metodických přístupech:

6.4.1.1 Studium vztahů mezi vizuálním hodnocením fuzariózních zrn, obsahem mykotoxinů a přítomností patogenů *Fusarium* spp.

Vztahy mezi vizuálním hodnocením fuzariózních zrn (VFZ), obsahem mykotoxinů (DON, resp. ZEA), napadení klasovými fuzárii (index FHB) a přítomností patogenů *Fusarium* spp. byly hodnoceny na různých souborech ozimé pšenice a jarního ječmene. Výsledky byly podrobně rozpracovány a využity ve výstupech projektu [1], [12], [13], [14], [29], [31].

SOUHRN

Každoročně byl vyhodnocován soubor 60 vzorků ozimé pšenice, pocházejících od zemědělců z různých lokalit ČR (tab. 13). Jednalo se o velmi různorodé soubory vzorků, obsahující různé odrůdy a pěstované po různých předplodinách. Korelace mezi DON a VFZ byly ve všech letech vysoce průkazné. Nejtěsnější vztah byl zjištěn v roce 2007 (korel.koef. 0,82), v tomto

roce byla také zjištěna nejvyšší úroveň obsahu DON a druhý nejvyšší podíl výskytu *F. graminearum*. Nejvyšší výskyt *F. graminearum* byl zjištěn v roce 2009, v tomto roce byla zjištěna druhá nejvyšší úroveň obsahu DON a druhý nejtěsnější vztah mezi DON a VFZ (korel.koef. 0,79). V tomto roce bylo mimořádně často ve srovnání s ostatními roky nalezeno *F. culmorum*. Nejméně těsný vztah DON/VFZ byl zjištěn v roce 2008, kdy byla úroveň obsahu DON nejnižší a *F. graminearum* bylo zjištěno nejméně často za sledované období. Také pro ZEA byly zjištěny průkazné korelace s VFZ. Pro ZEA byly korelace počítány pro menší počet vzorků než pro DON, vzhledem k tomu, že některé vzorky měly ZEA negativní. Tento fakt se také mohl podílet na slabších korelacích ZEA s VFZ.

Pro odstínění vlivu lokality a odrůdy byly tytéž parametry sledovány na ozimé pšenici odrůdy Sulamit z víceletého pokusu na jedné lokalitě (tab. 14). Rozdíly mezi ročníky rámcově odpovídaly situaci vyplývající z analýzy vzorků z celé ČR, byly však zřetelnější. Vysoce průkazné závislosti DON/ Σ VFZ a DON/FHB byly zjištěny pouze v letech 2007 a 2009. V korelacích DON s jednotlivými kategoriemi VFZ se projevil vliv ročníku: v roce 2007 průkazně s DON korelovaly VFZ1 a VFZ3, v roce 2009 pouze VFZ1. V roce 2006, který byl charakterizován silnými srážkami po dobu dvou týdnů v období zralosti, bylo hodnocení fuzariózních zrn velmi obtížné. Problémem byla již jejich samotná identifikace, protože velká část zrn byla porostlá, šedě zbarvená sporami černí a zrna napadená fuzárií, která se odlišovala pouze barevnými změnami, nebylo možno odlišit. Proto obsah zrn v kategorii VFZ1 (pouze změny barvy) s obsahem DON nekoreloval. Na nedostatek závislosti mohlo mít vliv také to, že v tomto roce byl zjištěn velký podíl výskytu *F. avenaceum* a *F. poae*, tj. druhů, které DON neprodukují. Těsný vztah byl naopak zjištěn mezi DON a VFZ3, tj. zrna silně poškozenými, s barevnými i tvarovými změnami. V roce 2008 byl v souboru vzorků velmi nízký obsah DON a také téměř nebyly zjištěny žádné patogeny *Fusarium*, pouze u dvou vzorků *F. graminearum*. Žádná kladná souvislost mezi podílem VFZ a obsahem mykotoxinů nebyla pozorována.

Nejlépe čitelné souvislosti byly ve všech letech pozorovány pro inokulované vzorky pšenice pěstované na jedné lokalitě (tab.15). Jednalo se o vzorky s širokým rozsahem sledovaných parametrů. Ve všech letech byla zjištěna vysoce průkazná závislost jak mezi DON a VFZ jako celek i mezi DON a VFZ1. Nejméně často byla zjištěna korelace mezi DON a VFZ2, tj. zrna scvrklými, bez barevných změn.

U ječmene (tab. 16) jsou vizuální projevy napadení zrn patogeny *Fusarium* jiné než u pšenice a velmi často nezřetelné. Závislosti byly hodnoceny pouze u ječmene inokulovaného patogeny *Fusarium* spp. a pěstovaného na jedné lokalitě. Zrna ječmene byla tříděna do dvou kategorií, a to zrna zdravá, dále zrna se změnou barvy typickou pro napadení patogeny *Fusarium* spp. (růžová, lososová) (VFZ1) a zrna s jinou změnou barvy (VFZ2). Ačkoliv se jednalo o modelové případy, závislosti byly slabší, než pro vzorky z obdobných pokusů v pšenici. V žádném ze sledovaných pokusů nebyla zjištěna závislost pro zrna kategorie VFZ2. V letech 2006-2008 byly zjištěny průkazné závislosti mezi DON a VFZ1, výjimku tvořil rok 2009, kdy průkazná závislost nebyla zjištěna.

ZÁVĚR

Na základě uvedených zjištění je možno konstatovat, že závislost mezi obsahem fuzariového mykotoxinu DON a obsahem vizuálně poškozených zrn (VFZ) ozimé pšenice existuje. Výzkumy provedené v rámci projektu v letech 2006-2009 ukázaly, že u nás na pšenici v těchto letech převládalo *F. graminearum*, druh produkující zejména trichotheceny B (např. DON, nivalenol, fusarenon-X) a ZEA. Korelace mezi obsahem VFZ a DON i VFZ a ZEA

analyzované v rámci řešení projektu byly vesměs velmi těsné, a to i u různorodých vzorků ze zemědělské praxe. Faktory jako jsou ročník, lokalita pěstování a složení spektra druhů *Fusarium* však měly na souvislost vizuálně hodnotitelných příznaků napadení fuzárií a obsahu DON významný vliv. Nelze proto na základě vizuálního hodnocení podílu fuzariózních zrn obsah mykotoxinů kvantifikovat. Je však možné brát v úvahu obsah VFZ jako jeden z faktorů pro stanovení míry rizika, že vzorek může obsahovat zvýšený obsah mykotoxinů a že je nutno jej podrobit přesnému laboratornímu rozboru. Hodnocení podílu VFZ a racionální interpretace této hodnoty tak může pomoci minimalizovat riziko výskytu mykotoxinů ve vzorcích určených k potravinářskému zpracování.

Ročník, tj. průběh počasí, ovlivňuje jak druhovou skladbu patogenů *Fusarium*, tak také dobu, kdy dojde k infekci klasů. Fuzariózy klasů mohou být způsobeny mnoha různými patogeny *Fusarium*, produkujícími desítky různých toxických látek. U některých druhů produkce mykotoxinů dosud zjištěna nebyla (např. druhy *Microdochium nivale*), některé tvoří převážně mykotoxiny, které dosud nejsou limitovány (např. *F. avenaceum*, *F. poae*, *F. sporotrichioides*). Vizuální symptomy poškození zrn těmito různými patogeny jsou však obdobné a obtížně rozlišitelné. Záleží také na době, kdy k infekci porostu dojde. Pokud infekce proběhne v době pro patogena optimální, tedy v době květu pšenice, mohou být vnější symptomy napadení zrn jiné než při pozdní infekci již vyvinutých zrn. Problémem ovlivňujícím využitelnost parametru „obsah VFZ“ je také subjektivita hodnocení a zkušenosti pracovníka provádějícího hodnocení, protože stanovená vizuální kritéria hodnocení napadení zrna se mohou lišit, což ovlivňuje celkový výsledek hodnocení.

6.4.1.2 Ověření využití metod analýzy obrazu pro automatizaci detekce podílu zrn infikovaných patogeny *Fusarium*.

Byla ověřována možnost posouzení kontaminace celých zrn ozimé pšenice fuzariiovými mykotoxiny pomocí metody analýzy obrazu digitálních snímků zrn. Výsledky byly podrobně zpracovány ve výstupu [17], dále byla zpracována publikace a odeslána do *Czech Journal of Food Science* 09/2008. V současnosti je v oponentním řízení.

JIRSA, O. – POLIŠENSKÁ, I. – KLEM, K. – BABUŠNÍK, J. The Use of Image Analysis to Predict DON Content in Wheat.

V roce 2010 bude podána přihláška k registraci užitečného vzoru – „Metoda analýzy digitálních optických snímků za účelem identifikace fuzariózních pšeničných zrn“.

SOUHRN

V roce 2007 byla prováděna měření na souboru 5 vzorků ozimé pšenice se známým obsahem DON (<0,2 až 21,6 mg/kg) a VFZ. Z nich bylo náhodně vybráno po 30 zrnech pro obrazovou analýzu, kdy byly hodnoceny digitální fotografie jednotlivých zrn. Pro sedm sledovaných parametrů byly nalezeny statisticky významné korelace ($P < 0,05$), mezi nejsilnější patřila průměrná intenzita modré barvy a faktor tvaru. K nevýznamným patřila průměrná intenzita červené barvy, celková intenzita a obvod objektu (obraz zrna). Negativní významné korelace (plocha, objem, faktor tvaru) jsou v souladu se snížením hmotnosti napadených zrn. Metodou umělých neuronových sítí byl na základě těchto parametrů vytvořen model pro predikci obsahu DON. V důsledku použití průměrných hodnot obsahu DON bylo patrné zvyšování rozptylu predikovaných hodnot pro více kontaminované vzorky. Důvodem je to, že i vzorek s vysokým obsahem DON obsahuje zdravá zrna. Dále byl analyzován soubor jiných 13

jednotlivých zrn se známým obsahem DON. Opět byly zjištěny významné korelace barevných parametrů a DON.

V roce 2008 a 2009 byly analyzovány snímky jednotlivých zrn i hromadné vzorky pšenice se známým obsahem DON. Hromadné vzorky byly charakterizovány 10 snímky, nebyly však nalezeny parametry, které by vedly k uspokojivému rozlišení napadených a zdravých vzorků. Pro jednotlivá zrna rozdělená do tří skupin (obr. 9) byla pozorována významná korelace mezi hmotností zrn a tvarovými deskriptory, zvláště šířkou ($r = 0.877^{***}$) a plochou ($r = 0.849^{***}$). Samotné tvarové faktory však nebyly dostatečné pro rozlišení zdravých a napadených zrn. Aplikace hierarchické shlukové analýzy však vedla k získání velmi dobré klasifikace použitím deskriptorů barvy – zejména odstínu (H) a sytosti (S) (tab. 17). Poškozená zrna se vyznačovala vyššími hodnotami H a nižšími S. Souvislost mezi obsahem DON a barevnými změnami zrn je patrná z analýzy deskriptorů barvy metodou analýzy hlavních komponent (obr. 10).

ZÁVĚR

Dosažené výsledky prokázaly souvislost mezi obsahem DON v zrnech pšenice a jejich barevnými a tvarovými charakteristikami a použití analýzy barvy a tvaru ve spojení s vícerozměrnou analýzou umožnilo rozlišit mezi infikovanými a zdravými zrny. Další výzkumy v této oblasti mohou poskytnout základ pro návrh automatického systému počítačové obrazové analýzy zaměřeného na zdravotní stav zrn. Je však potřeba zdůraznit, že ač lepší měření obsahu VFZ povede k mnohem přesnějšímu třídění, stále umožní pouze přibližný odhad koncentrace DON v zrnech, protože výskyt vizuálních symptomů napadení patogeny *Fusarium* je ovlivňován mnoha faktory – viz závěry uvedené v části 6.4.1.1. Metoda by mohla být využitelná pro vytřídění jednotlivých napadených zrn, ne pro odhad obsahu DON ve vzorku obiloviny jako celku.

6.4.2 V002 Predikce rizika kontaminace obilovin fuzáriovými mykotoxiny na základě monitoringu infekčního potenciálu a vyhodnocení vlivu počasí a agrotechnických opatření.

Řešení tohoto dílčího cíle spočívalo na následujících metodických přístupech:

6.4.2.1 Využití časově monitorovaného záchytu askospor, sledování uvolňování askospor s využitím aktivního lapače spor, korelace mezi intenzitou uvolňování askospor a kontaminací zrna fuzáriovými mykotoxiny.

Základní myšlenkou bylo využít pro predikci napadení porostu ozimé pšenice klasovými fuzárii a kontaminace zrna deoxynivalenolem časově monitorovaný záchyt askospor *Giberella zae*, realizovaný pomocí aktivního lapače spor. Výsledky byly průběžně publikovány, viz výstupy [4], [18]. Další publikace je plánována na rok 2010 (Druhy *Fusarium* spp. na pšenici a ječmeni v ČR)

SOUHRN

Byly zjišťovány korelace mezi dynamikou uvolňování askospor vztažené k růstovým fázím obilovin, nejvýznamnějšími parametry průběhu povětrnosti, napadením klasovými fuzárii a obsahem mykotoxinů v letech 2006-2009. Vzorky pro získání hodnot obsahu mykotoxinů pro analýzu těchto vztahů byly voleny tak, aby charakterizovaly co nejlépe daný ročník, tj. z dlouhodobého pokusu s ozimou pšenicí, kde je přesně zachovávána agrotechnika i odrůdové

složení v průběhu let (odrůdy Akteur, Cubus a Meritto) a jednak ze souboru vzorků získaných z celé ČR. Pro záchyt askospor bylo využito lokality s dostatečným zdrojem infekčního materiálu (posklizňové zbytky kukuřice), a to tak, aby bylo uvolňování askospor zachyceno včas, v dostatečné intenzitě a aby mohly být posouzeny rozdíly mezi ročníky.

Přímý vliv časové souslednosti objevení se askospor a růstové fáze pšenice na výsledný obsah DON nebyl pozorován (tab. 18). Míra kontaminace ozimé pšenice mykotoxinem DON na sledované lokalitě korespondovala se situací v celé ČR, kde nejvyšší podíl pozitivních vzorků na obsah DON byl zjištěn v roce 2007 (tab.19). Prvnímu záhytu askospor předcházely vždy srážky. Roky se zvýšeným obsahem DON (2007, 2009) (tab. 20) se vyznačovaly dostatkem srážek, které však nebyly omezeny jen na dobu kvetení. Např. v roce 2008 byly v období kvetení zaznamenány 3 srážkové dny s celkovým úhrnem srážek 17,3 mm, obsah DON byl však nižší než v roce 2007, kdy byly v období kvetení srážky zaznamenány pouze v 1 dnu o celkovém úhrnu 9,4 mm. Hojně srážky však následovaly v období po odkvětu.

Kromě askospor *G. zeae*, které byly zachyceny ve všech sledovaných letech, byly na pásce hojně zachycovány také pyknostry *Septoria tritici* a spory rzí, což poukazuje na možnost využití pro předpověď infekčního tlaku i jiných chorob. Naopak na pásce se prakticky neobjevovaly makrokonidie fuzárií, což svědčí o jejich minimálním pohybu vzduchem a jejich významu pouze za silně deštivého počasí, kdy dochází k rozstříku makrokonidií do vyšších pater a následně také do klasů.

ZÁVĚR

Přímý vliv časové souslednosti objevení se askospor a růstové fáze pšenice na výsledný obsah DON nebyl pozorován. Výsledky potvrzují literární údaje, a totiž že primárním povětrnostním faktorem ovlivňujícím proces infekce porostu patogeny způsobujícími FHB, rozvoj epidemie a následnou tvorbu mykotoxinů je množství, doba a četnost srážek v kombinaci s teplotou a dobou slunečního svitu. Tomuto vlivu podléhají všechny složky komplexu interakcí hostitel–patogen–vnější prostředí.

6.4.2.2 Studium vlivu počasí, zpracování půdy a fungicidní ochrany

V rámci řešení této části projektu byl sledován vliv počasí, předplodiny, zpracování půdy a fungicidního ošetření na obsah mykotoxinů, spektrum patogenů *Fusarium* a obsah fuzariózních zrn. Výsledky byly průběžně publikovány a využity v následujících výstupech: [2], [6], [7], [8], [9], [10], [11], [12], [13], [14], [19], [20], [22], [23], [24], [25], [26], [27], [28], [31], [32], [33].

SOUHRN - Vliv počasí

V rámci řešení projektu bylo analyzováno na výskyt druhů *Fusarium* 240 vzorků pšenice a 190 vzorků ječmene od farmářů z různých lokalit ČR. U vzorků byl znám obsah DON, u pšenice také ZEA a u pšenice byl zhodnocen obsah VFZ. Převládajícím druhem na pšenici v ČR bylo zjištěno *F. graminearum* (obr. 11). Frekvence jeho výskytu kolísala v závislosti na ročníku: nejméně často byl zjištěn v roce 2008 (na 60 % vzorků), nejčastěji v roce 2009 (na 100 % vzorků). Podíl *F. culmorum* se od r. 2006 stabilně zvyšoval, v roce 2008 byl již druhým nejčastěji zjištěným druhem (na 23 % vzorků) a v roce 2009 byl přítomen dokonce na 59 z 60 vzorků. Podíl *F. avenaceum* byl nejvyšší v letech 2006 a 2009, ročnících charakterizovaných vlhčím a chladnějším počasím. Celkově nejnižší frekvence výskytu patogenů na pšenici byla zjištěna v roce 2008, kdy byl také zjištěn nejnižší průměrný i maximální obsah DON (tab. 21). Nejvyšší podíl VFZ byl zjištěn v roce 2007, což se shoduje

také s nejvyšším obsahem DON v tomto roce. Nejvyšší frekvence výskytu patogenů *Fusarium* byla zjištěna v roce 2009.

Na základě statistického vyhodnocení údajů z pokusu na 1 lokalitě a 1 odrůdě (Sulamit) vyplývá, že vliv ročníku byl významný (hladina spolehlivosti 0,95) na všechny sledované parametry, tj. na obsah DON, FHB a VFZ jako celku i jednotlivých kategorií VFZ (tab. 22 a 23). Výskyt druhů *Fusarium* zde rámcově odpovídal situaci v ČR: převládající druh *F. graminearum*, nejvyšší výskyt *F. avenaceum* a *F. poae* v roce 2006, výskyt *F. culmorum* v roce 2009 na všech vzorcích a v roce 2008 velmi málo zjištěných druhů (Obr. 12).

Nejčastěji detekovaným patogenem *Fusarium* na ječmeni v průměru let bylo *Fusarium poae* (Obr. 13). *F. poae* neprodukuje DON, patří do skupiny producentů trichothecenů A (např. HT-2 toxin, T-2 toxin, diacetoxyscirpenol). V roce 2007 byl tento patogen nalezen na 100 % vzorků, v roce 2009 na 94 % (tj. 47 z 50 vzorků). V roce 2009 však bylo ještě častěji než *Fusarium poae* nalezeno *F. graminearum*, které bylo přítomno na 96 % vzorků, tj. nebylo přítomno pouze na 2 vzorcích ječmene. Jednalo se o vzorky s nejnižším obsahem DON. Přitom v ostatních letech se *F. graminearum* na ječmeni vyskytovalo pouze sporadicky, maximálně na 14 % vzorků v roce 2007. Hojná přítomnost *F. graminearum* v roce 2009 koresponduje s absolutně nejvyšší úrovní kontaminace ječmenem mykotoxinem DON ze všech sledovaných let (tab. 24); 13 vzorků z analyzovaných 50 mělo obsah DON vyšší než limit 1250 µg/kg. *F. culmorum* se vůbec na ječmeni nevyskytlo v žádném z let 2006-2009.

SOUHRN - Vliv předplodiny a zpracování půdy

Pro všechny vzorky pšenice (240 vzorků) a ječmene (190) získané v letech 2006-2009 z celé ČR byl analyzován výskyt druhů *Fusarium* po různých předplodinách. U pšenice (tab. 25) byla zjištěna průkazně vyšší četnost nálezu *F. graminearum* po předplodině kukuřici ve srovnání s ostatními předplodinami. U ječmene (tab. 26) nebyl průkazný vliv předplodiny na výskyt druhů *Fusarium* zjištěn.

Statistické vyhodnocení vlivu předplodiny a zpracování půdy v pokusu na 1 lokalitě s odrůdou Sulamit v letech 2006-2009 na obsah DON, FHB a VFZ jako celku i jednotlivých kategorií VFZ je uvedeno v tab. 22. Zatímco předplodina měla průkazný vliv na všechny sledované parametry s výjimkou VFZ2, zpracování půdy nemělo vliv na žádný ze sledovaných parametrů. Předplodina kukuřice však průkazně zvýšila DON, FHB i VFZ jako celek (tab. 27). Nejčastější výskyt patogenů *Fusarium* byl zjištěn po předplodině kukuřici a v bezorebném zpracování půdy.

SOUHRN - Vliv fungicidní ochrany

V pokusech na pšenici i na ječmeni byl sledován vliv aplikačního termínu (T1-7 dní před termínem inokulace, T2-v termínu inokulace a T3-7 dní po termínu inokulace) a použité účinné látky (čistý strobilurin, triazol, kombinace strobilurin+triazol). V rámci pokusných let 2006-2009 byla pozorována variabilita týkající se vhodnosti určitého termínu aplikace. Zřetelně se projevila neúčinnost samostatně aplikovaného strobilurinu, a to jak na obsah DON, tak také na napadení FHB i obsah VFZ. Všeobecně byly v těchto pokusech pozorovány velmi těsné korelace mezi obsahem DON a VFZ; mezi DON a FHB byly vztahy méně těsné.

V těchto pokusech byl hodnocen také vliv fungicidní aplikace na spektrum patogenů *Fusarium*. Nebyl pozorován jasný selektivní vliv směrem k některému druhu a situace ve výskytu druhů odpovídala rámcově situaci pro vzorky z celé ČR v daném roce. Např. v roce 2008 byla velmi nízká četnost výskytu patogenů *Fusarium* všeobecně, bylo přítomno pouze

F. culmorum, použité pro inokulaci, které bylo nalezeno jak v neošetřené kontrole tak i ve variantách ošetřených fungicidy. Také v roce 2009 všechny použité fungicidy (s výjimkou samotného strobilurinu) účinně redukovaly obsah DON i VFZ, a také na všech variantách (ošetřených i neošetřených) bylo přítomno *F. culmorum*. Dále ještě bylo v tomto roce na všech variantách s výjimkou varianty ošetřené kombinací strobilurinu a triazolu nalezeno *F. graminearum*, na 10 z 15 variant bylo nalezeno *F. avenaceum*, na 6 pak *F. poae*. To odpovídá hojnému nálezu druhů *Fusarium* v tomto roce a odpovídá i proporcionálně rozložení četnosti výskytu druhů *F. avenaceum* a *F. poae* v rámci ČR.

Výsledky pokusů na pšenici i ječmeni ukázaly pozitivní efekt fungicidní ochrany. Je zřejmé, že nyní používané kombinované fungicidy (triazoly, kombinace triazolů se strobiluriny) na fuzária účinkují v zásadě velmi dobře. Účinnost je však závislá době aplikace vzhledem k vývoji počasí v daném ročníku. V rámci pokusných let byla pozorována variabilita vhodnosti termínu aplikace, vždy se však nejvhodnější termín pohyboval okolo doby květu ozimé pšenice. Ve fungicidních pokusech v ječmeni byla účinnost v porovnání s pšenicí o něco nižší.

6.4.3 V003 Technický vývoj metody měření spektrálních veličin pro screeningová stanovení obsahu mykotoxinů

Výsledky řešení tohoto dílčího cíle byly průběžně publikovány [3], [15], [16], [17], [21].

SOUHRN

K měření byly využívány série vzorků obilovin lišících se obsahem DON, a to jak soubory vzorků z ČR (různé odrůdy, předplodiny), tak jednodrudivé soubory získané z fungicidních inokulovaných pokusů nebo pokusů s různým zpracováním půdy a předplodinami. Měření byly hromadné vzorky i jednotlivá zrna (5×30 zrn) zvlášť na tmavém pozadí a křivka spektrální odrazivosti byla zprůměrována. Za účelem zlepšení přesnosti predikce byla trénována neuronová síť s využitím vícenásobných vstupních parametrů odvozených od údajů o spektrální odrazivosti. Metoda měření byla postupně upravována s cílem snížení chyby měření (instalace chlazení, použití krycího sklíčka). Některé soubory byly skenovány také ve formě šrotu a mouky. Kromě normalizovaných spekter byly hledány také korelace použitím derivovaných spekter.

Z výsledků korelační analýzy při měření po jednotlivých zrnech (pšenice Ebi) byl nalezen nejtěsnější vztah ($r = 0,4$) mezi odrazivostí a obsahem DON pro vlnové délky okolo 500, 700 a 1000 nm. Při měření hromadného vzorku byly získány mírně odlišné výsledky—oblast ve které byly nalezeny nejtěsnější korelace (korelační koeficienty se blížily 0,6) se pohybovala mezi 500–650 nm. Srovnání dat získaných měřením jednotlivých zrn a hromadného vzorku ukázalo velkou variabilitu v odezvě spektrální odrazivosti, která ovšem odpovídá skutečné variabilitě charakteru jednotlivých zrn ve vzorcích, neboť i vzorek s vysokým obsahem DON obsahuje zdravá zrna. Tuto variabilitu ilustruje např. graf na obr. 14, kde jsou rozdíly normalizovaných reflektancí spolu s rozptyly těchto hodnot pro 30 měřených zrn ze dvou vzorků.

Hodnocení dalších souborů pšenice přineslo lepší výsledky v souborech s větším rozptylem koncentrací DON. Velmi slabé korelace byly nalezeny v souborech slabě napadených, což byly pšenice z monitoringu (kromě 2007) a většina pokusů s přirozenou infekcí. Výjimkou byl soubor Sulamit 2007, kde byly dosaženy nejlepší korelace i přes menší rozptyl hodnot.

K oblastem s nejvyššími korelacemi patřily oblasti 500–650 nm a kolem 730 nm, nicméně mezi jednotlivými soubory byly rozdíly. Protože hodnoty celkového obsahu VFZ byly silně korelovány s obsahem DON, poskytly tak analogický charakter korelací s hodnotami reflektance jako v případě obsahu DON (obr. 15). Pro analýzu ječmene byly použity soubory z fungicidních pokusů. Při hodnocení spekter byly získány nejtěsnější korelace mezi reflektancí celých zrn a obsahem DON až 0,75. Analogicky jako pro pšenice byly významné oblasti vlnových délek 500 až 670 nm (max. 570 nm) a 730 nm, mezi soubory však byly rozdíly.

Spektra získaná ze šrotu pšenice i korelační závislosti mezi reflektancí a obsahem DON měly analogický charakter jako při měření celých zrn, nebyla pozorována významně lepší nebo horší míra korelace oproti celým zrnům. Pro vybrané soubory pšenice byly vytvořeny kalibrační modely pomocí různých typů umělých neuronových sítí (ANN), které využívaly vybrané vlnové délky. Byly dosaženy středně silné až silné korelace mezi pozorovanými a predikovanými hodnotami.

ZÁVĚR

Přímá detekce mykotoxinů vyžaduje použít střední až blízkou oblast infračerveného záření, kdežto většina běžných spektrometrů pracuje ve viditelné až infračervené oblasti, tj. v oblasti, kde lze detekovat vizuální poškození zrn patogeny *Fusarium* spp.. Proto dávaly lepší výsledky soubory jednodrůdové, pěstované v identických klimatických i agrotechnických podmínkách, kde je také závislost mezi obsahem vizuálně napadených zrn a obsahem DON nejvýznamnější. Při vyhodnocování křivek spektrální odrazivosti různých souborů vzorků byly pozorovány odlišné charakteristiky korelační závislosti k obsahu DON, přesto bylo možné určit některé opakující se rysy. Použitím normalizovaných spekter byly určeny dvě nejvýznamnější oblasti okolo 500 a 730 nm. PCA analýzou spekter byl potvrzen hlavní zdroj variability, a to celková intenzita záření dopadajícího na detektor. Protože je tato veličina ovlivněna způsobem použitého měření (např. vliv ručního přikládání snímače ke vzorku), je zde prostor pro další aplikaci technik, které význam této složky snižují (normalizace, derivace) a pro úpravu technického uspořádání snímacího systému. Další práce na vývoji metody budou probíhat v rámci řešení postdoktorského projektu GAČR (Reg. Č. 525/09/P647, řešitel Ing. O. Jirsa, Ph.D.).

6.5 Závěrečné shrnutí

Jednotlivé dílčí cíle naplánované na období řešení projektu byly splněny. Účelem projektu bylo přispět k řešení praktických problémů, které se vyskytují při pěstování obilovin a při následném uplatnění produkce vzhledem k nutnosti zajištění zdravotní nezávadnosti obilovin z hlediska obsahu fuzáriových mykotoxinů. Dosažené výsledky prokázaly souvislost mezi obsahem deoxynivalenolu v zrnech pšenice a jejich barevnými a tvarovými charakteristikami. Použití analýzy barvy a tvaru ve spojení s vícerozměrnou analýzou umožnilo rozlišit mezi zrny infikovanými patogeny *Fusarium* a zdravými. Bylo však zjištěno, že zejména faktor ročník má na souvislost vizuálně hodnotitelných příznaků napadení fuzárií a obsahu mykotoxinů významný vliv. Tento fakt ovlivňuje také využitelnost sensorového systému založeného na měření spektrálních veličin pro screeningová stanovení obsahu mykotoxinů. Výzkumy provedené v rámci projektu v letech 2006-2009 ukázaly, že na pšenici v ČR v těchto letech převládalo *F. graminearum*, na ječmeni bylo ve sledovaných letech jako převládající druh zjištěno *F. poae*. Ve výskytu druhů byla pozorována značná ročníková variabilita. Sledování složení spektra patogenů *Fusarium* na obilovinách se ukazuje jako velmi významné např. pro možnost odhadu vývoje napadení obilovin chorobami v souvislosti

se změnou klimatu. V rámci řešení projektu byly získány a předávány uživatelům poznatky týkající se vlivu počasí, předplodiny, zpracování půdy a fungicidního ošetření využitelné v systému správné zemědělské praxe zaměřené na eliminaci výskytu fuzáriových mykotoxinů v obilovinách. Výsledky byly podle plánu publikovány v impaktovaném a v recenzovaných časopisech a formou článků v odborných časopisech a přednášek pro zemědělskou veřejnost, poradce a odborné pracovníky předávány uživatelům. Plánovaných výsledků bylo dosaženo. Projekt přispěl k rozšíření poznání v oblasti výskytu fuzáriových mykotoxinů v obilovinách.

7 Přílohy

Tabulky 1 - 28 (samostatný soubor)

Obrázky 1- 15 (samostatný soubor)

8 Dosažené výsledky

tříděné podle „Definice druhů výsledků s bodovým ohodnocením“ (od roku 2009 – po zahrnutí schválených Změn struktury RIV od roku 2009 ze dne 20.11.2008) s uvedením odkazu na jejich registraci v registru výsledků.

J – článek v odborném periodiku

Jimp

[1] QG60047/01/2007 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.

[2] QG60047/08/2008 POLIŠENSKÁ, I. – HAJŠLOVÁ, J. – VÁŇOVÁ, M. – SALAVA, J. – JIRSA, O. – ŠLIKOVÁ, S. – MATUŠINSKY, P. (2008): *Fusarium* pathogens occurrence and mycotoxin content in wheat. *Cereal Research Communications*, 36 (Suppl. 6), s. 521–524. ISSN 0133-3720.

Jneimp (recenzovaný)

[3] QG60047/10/2008 JIRSA, O. – BABUŠNÍK, J. – KLEM, K. – POLIŠENSKÁ, I. (2008): Vývoj metody pro screeningová stanovení mykotoxinů v obilovinách. *Obilnářské listy*, 16(2), s. 35–38. ISSN 1212-138X

[4] JIRSA, ONDŘEJ - POLIŠENSKÁ, IVANA - MATUŠINSKY, PAVEL: Monitoring askospor *Gibberella zeae* v porostu ozimé pšenice. (Monitoring of *Gibberella zeae* ascospores in winter wheat stand) . *Obilnářské listy*, 17, 2009, 4, 95-98 ISSN: 1212-138X

[5] QG60047/06/2008 POLIŠENSKÁ, I. (2007): Kontaminanty v obilovinách - novinky v legislativě. *Obilnářské listy*, 15, 2007, 3, s.58-60.

[6] QG60047/07/2008 POLIŠENSKÁ, I. (2008): Sklizeň obilovin 2007 z hlediska obsahu mykotoxinů. *Obilnářské listy*, 16(1), s. 7–10. ISSN 1212-138X.

[7] POLIŠENSKÁ, IVANA - JIRSA, ONDŘEJ - SALAVA, JAROSLAV: Fuzáriové mykotoxiny a patogeny rodu *Fusarium* v obilninách sklizně 2008. *Obilnářské listy*, 17, 2009, 1, 3-6 ISSN: 1212-138X

[8] QG60047/01/2008 POLIŠENSKÁ, I. – SÝKOROVÁ, S. – MATĚJOVÁ, E. – CHRPOVÁ, J. – NEDOMOVÁ, L. (2008): Occurrence of deoxynivalenol in Czech grain. *World Mycotoxin Journal*, 1, 3, s. 299–305. ISSN 1875-0710.

[9] TVARUŽEK, LUDVÍK - POLIŠENSKÁ, IVANA: Význam fungicidní ochrany pšenice ozimé proti klasovým fuzáriím z pohledu efektivity celého systému. (Importance of fungicidal control of Fusarium head blight in winter wheat with a view to effectiveness of the whole system) . *Obilnářské listy*, 17, 2009, 3, 70-72 ISSN: 1212-138X

C – kapitola v odborné knize

[10] QG60047/04/2008 POLIŠENSKÁ, I.: Mykotoxiny. V knize: Prugar, J a kol.: Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s., Praha, 2008, str. 57-59. ISBN 978-80-86576-28.

D – článek ve sborníku evidovaném v databázi ISI Proceedings společností Thomson Reuters (New York, USA).

[11] QG60047/11/2008 POLIŠENSKÁ, I. – VÁŇOVÁ, M. – KLEM, K. – HAJŠLOVÁ, J. – NEDOMOVÁ, L. (2008): Risk factors of the occurrence of Fusarium mycotoxins in wheat. 4th International Congress Flour – Bread '07. 6th Croatian Congress of Cereal Technologists, s. 70. ISBN 978-953-7005-15-3.

Ostatní – Odborné studie pro státní správu:

[12] QG60047/13/2008 POLIŠENSKÁ, I.: Odborná studie "Analýza rizika výskytu kontaminujících látek v obilovinách nabízených do intervenčního nákupu – aktualizace 2006". Vypracováno pro Státní zemědělský intervenční fond. Kroměříž, 2006.

[13] QG60047/13/2008 POLIŠENSKÁ, I. - JIRSA, O. - VÁŇOVÁ, M.: Odborná studie "Analýza rizika výskytu kontaminujících látek v obilovinách nabízených do intervenčního nákupu – aktualizace 2008". Vypracováno pro Státní zemědělský intervenční fond. Kroměříž, 2008.

[14] POLIŠENSKÁ, I.: Odborná studie „Analýza rizika výskytu kontaminujících látek v obilovinách nabízených do intervenčního nákupu – aktualizace 2009“. Kroměříž, 2009.

Ostatní - Prezentace na konferenci včetně příspěvku ve sborníku

[15] QG60047/10/2008 JIRSA, O. – KLEM, K. – POLIŠENSKÁ, I. – BABUŠNÍK, J. (2008): Prediction of deoxynivalenol content in wheat using spectral reflectance. ICPP 2008, 9th International Congress of Plant Pathology, 90, 2008, 2, Supplement, s. 321.

[16] QG60047/10/2008 JIRSA, O., POLIŠENSKÁ, I. (2008): Use of a fiber-optic spectrometer to predict deoxynivalenol content in grain. VIII Miedzynarodowa Konferencja Naukowa "Mikotoksyny i grzyby plesniowe", Bydgoszcz, s. 31. ISBN 978-83-7096-664-5.

[17] JIRSA, ONDŘEJ - POLIŠENSKÁ, IVANA: Image and spectral analysis of Fusarium-damaged wheat grain. 4th International Symposium on Recent Advances in Food Analysis : November 4-6, 2009, Prague, Czech Republic, Book of Abstracts / Edited by Jana Pulkrabová, Marie Suchanová and Monika Tomaniová, 375.

[18] JIRSA, O. – POLIŠENSKÁ, I. – MATUŠINSKY, P. (2009). Sledování výskytu askospor *Gibberella zeae* v porostu ozimé pšenice. S. 83. In: ŠAFRÁNKOVÁ, I. – ŠEFROVÁ, H.

(eds): XVIII. Česká a slovenská konference o ochraně rostlin. Sborník abstraktů. MZLU v Brně, 2.–4. září 2009, 239 s. ISBN 978-80-7375-316-0.

[19] JIRSA, ONDŘEJ - TVARŮŽEK, LUDVÍK - POLIŠENSKÁ, IVANA : Fungicide effect on FHB and DON in wheat and barley. ISM Conference 2009. Worldwide Mycotoxin Reduction in Food and Feed Chains. Book of Abstracts : 9-11 September 2009, Tulln, Austria, 2009, 46

[20] POLIŠENSKÁ, Ivana - TVARŮŽEK, Ludvík: Fusarium mycotoxins in Czech commercial wheat in 2003-2005. European Fusarium Seminar, EFS9, Book of Abstracts, 19 - 22 September 2006, Wageningen, The Netherlands, 2006, s.32.

[21] QG60047/10/2008 POLIŠENSKÁ, Ivana - KLEM, Karel - BABUŠNÍK, Jiří: Use of spectral reflectance to predict deoxynivalenol content in wheat. European Fusarium Seminar, EFS9, Book of Abstracts, 19 - 22 September 2006, Wageningen, The Netherlands, 2006, s.33

[22] QG60047/02/2008 POLIŠENSKÁ, Ivana: Aplikace limitů pro fuzáriové mykotoxiny v obilovinách v ČR. Sborník referátů ze semináře: „Současné představy a požadavky na kvalitu rostlinných produktů“, České Budějovice, 29.8. 2006.

[23] QG60047/03/2008 POLIŠENSKÁ, Ivana: Fuzáriové mykotoxiny v obilovinách sklizně 2006. Sborník z konference „Jakost obilovin 2006“, Kroměříž, 11. 10. 2006.

[24] QG60047/07/2008 Polišenská, I.: Fuzáriové mykotoxiny v obilovinách sklizně 2007. Sborník z konference „Jakost obilovin 2007“, Kroměříž, 15.11. 2007. ISBN 978-80-86888-01-9.

[25] POLIŠENSKÁ, I., SÝKOROVÁ, S., MATĚJOVÁ, E. (2007): *Fusarium* mycotoxins in Czech grain. Book of Abstracts, XIIth International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins. Istanbul, Turkey.

[26] QG60047/09/2008 POLIŠENSKÁ, I. – SALAVA, J. – TVARŮŽEK, Ludvík – WOLF, G. – WEINERT, J. – MATUŠINSKY, Pavel (2008): Fusarium pathogens on cereals and occurrence of their toxins in the Czech Republic. ICPP 2008, 9th International Congress of Plant Pathology. Journal of Plant Pathology, 90, 2, Supplement, s. 324. ISSN 1125-4653.

[27] QG60047/12/2008 POLIŠENSKÁ, I. (2008): Fuzáriové mykotoxiny v obilovinách sklizně 2008. Sborník z konference “Jakost obilovin 2008”, Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž, s.r.o., Kroměříž. ISBN 978-80-86888-03-3.

[28] POLIŠENSKÁ, I.– SALAVA, J. – ŠINDELKOVÁ, M. – MATUŠINSKY, P. – JIRSA, O. (2009). Výskyt patogenů *Fusarium* na obilovinách v ČR v letech 2006–2008. S. 110. In: ŠAFRÁNKOVÁ, I. – ŠEFROVÁ, H. (eds): XVIII. Česká a slovenská konference o ochraně rostlin. Sborník abstraktů. MZLU v Brně, 2.–4. září 2009, 239 s. ISBN 978-80-7375-316-0.

Ostatní – Články v odborném tisku

[29] QG60047/03/2008 POLIŠENSKÁ, Ivana: Výskyt fuzariózních zrn a obsah mykotoxinů v pšenici. Úroda, 54, 2006, 7, tem. příl. OZIMÁ PŠENICE, s. 5-7.

[30] QG60047/05/2008 POLIŠENSKÁ, I. (2007): Základní aspekty a rizika skladování obilnin. AGRO 12 (3), 50-52.

[31] POLIŠENSKÁ, I. – JIRSA, O. (2009): Klasová fuzária a výskyt mykotoxinů v ozimé pšenici. *Farmář*, 15(7): XXI–XXIV. ISSN 1210-9789.

[32] POLIŠENSKÁ, IVANA - JIRSA, ONDŘEJ: Kontaminace obilovin fuzáriovými mykotoxiny. (Contamination of cereals with Fusarium mycotoxins). *Úroda*, 57, 2009, 5, 18-20 ISSN: 0139-6013

[33] POLIŠENSKÁ, IVANA - JIRSA, ONDŘEJ : Fuzáriové mykotoxiny v obilovinách sklizně 2008. (Fusarium mycotoxins in cereal grain from the 2008 harvest) . *Mlynářská ročenka 2009: Mlynářské noviny - příloha*, 2009, 97-109 ISSN: 1214-6369

Ostatní – Přednášky pro odbornou veřejnost

2006

POLIŠENSKÁ, Ivana: Fuzáriové mykotoxiny z hlediska fytopatologie, kvality obilovin a legislativy EU. Referát na semináři pořádaný firmou LABOR Bratislava a ÚKSUP „Odborný seminář o fuzarióze a aktuálně problematiku krmív“, Bratislava, 7.2. 2006 a Košice 14.2. 2006.

POLIŠENSKÁ, Ivana: Kontaminující látky v obilovinách. Cyklus přednášek pro zemědělskou veřejnost – 28.2., 1.3., 2.3., 3.3. 2006: „Co ještě nebylo řečeno o pěstování polních plodin“. Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž, s.r.o.

POLIŠENSKÁ, Ivana: Fuzáriové mykotoxiny v obilovinách. Přednáška pro pracovníky PENAM, Výzkumný ústav Kroměříž, s.r.o., Kroměříž, 11.5. 2006.

POLIŠENSKÁ, Ivana: Aplikace limitů pro fuzáriové mykotoxiny v obilovinách v ČR. Referát na semináři Komise jakosti rostlinných produktů „Současné představy a požadavky na kvalitu rostlinných produktů“, České Budějovice, Jihočeská univerzita, 29.8. 2006.

POLIŠENSKÁ, Ivana: Fuzáriové mykotoxiny v obilovinách v ČR. Referát na semináři Jemo Trading spol. s r.o. a VÚRV Praha „Mykotoxíny 2006“, Praha, VÚRV, 4.10. 2006.

POLIŠENSKÁ, Ivana: Fuzáriové mykotoxiny v obilovinách sklizně 2006. Referát na konferenci „Jakost obilovin 2006“, Kroměříž, 11. 11. 2006.

2007

POLIŠENSKÁ, Ivana: Fuzáriové mykotoxiny v obilovinách sklizně 2007. Referát na konferenci „Jakost obilovin 2007“, Kroměříž, 10. 11. 2007.

POLIŠENSKÁ, Ivana: Aktuální pohled na fuzáriové mykotoxiny v obilovinách. Cyklus přednášek pro zemědělskou veřejnost – 27.2., 28.2., 1.3. 2007: „Co ještě nebylo řečeno o pěstování polních plodin“. Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž, s.r.o.

2008

POLIŠENSKÁ, Ivana: Výskyt mykotoxinů v obilovinách a platná legislativa. Cyklus přednášek pro zemědělskou veřejnost – 27.2., 28.2., 1.3. 2008: „Zemědělství má budoucnost“. Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž, s.r.o.

POLIŠENSKÁ, Ivana, JIRSA, Ondřej: Fuzáriové mykotoxiny v obilovinách v ČR. Referát na semináři Jemo Trading spol. s r.o. a VÚRV Praha „Mykotoxíny 2008“, Praha, VŠCHT, 9.10. 2008.

POLIŠENSKÁ, Ivana: Fuzáriové mykotoxiny v obilovinách sklizně 2008. Referát na konferenci „Jakost obilovin 2008“, Kroměříž, 13. 11. 2008.

2009

POLIŠENSKÁ, Ivana: Fuzáriové mykotoxiny v obilovinách sklizně 2009. Referát na konferenci „Jakost obilovin 2009“, Kroměříž, 12. 11. 2009.

POLIŠENSKÁ, Ivana: Fuzariózní zrna a obsah mykotoxinů v pšenici. Přednáška na semináři ČSMOZZN, Hustopeče u Brna, 3.6. 2009.

POLIŠENSKÁ, Ivana, JIRSA, Ondřej: Analýza rizika výskytu fuzáriových mykotoxinů v obilovinách. Přednáška pro pracovníky poradenství zemědělského výzkumného ústavu Kroměříž, s.r.o., Kroměříž, 23.11. 2009.

POLIŠENSKÁ, Ivana: Mykotoxiny v krmných obilovinách. Seminář Praha 21.10. 2009, Výzkumný ústav rostlinné výroby v.v.i., Praha.

Další výstupy , které budou uplatněny v rámci PUV:

1) JIRSA, O. – POLIŠENSKÁ, I. – KLEM, K. – BABUŠNÍK, J. The Use of Image Analysis to Predict DON Content in Wheat. *Czech Journal of Food Science*. (byl odeslán do redakce 09/2008 – v recenzním řízení).

2) Registrace užitečného vzoru – „Metoda analýzy digitálních optických snímků za účelem identifikace fuzariózních pšeničných zrn“

3) 2 Recenzované publikace v roce 2010

9 Popis uplatnění

V rámci řešení projektu byly získány cenné poznatky využitelné v systému správné zemědělské praxe. Tyto výsledky již částečně byly uplatněny formou bodově hodnocených publikací i předávány uživatelům formou článků v odborných časopisech a přednášek pro zemědělce, poradce a odborné pracovníky. Tato činnost bude dále pokračovat dalšími publikacemi a přednáškami. Získané poznatky budou také uplatněny v navazujících projektech.

Tabulka 1. Stupnice hodnocení napadení klasů fuzárii.

Napadení	0 klásků	Procentní vyjádření	0
	1 klásek		5
	2 klásky		10
	3 klásky		15
	1/3 klasu		33
	1/2 klasu		50
	2/3 klasu		66
	3 zdravé klásky		85
	2-1 zdravých klásků		90
	0 zdravých klásků		100

Tabulka 2. Obsah DON, ZEA, VFZ a druhy *Fusarium* spp. pro vzorky pšenice z ČR, 2009.

Číslo MT	kraj	odrůda	předplodina	DON (µg/kg)	VFZ (%)	ZEA (µg/kg)	druh <i>Fusarium</i>			
							<i>F.</i> <i>a.</i>	<i>F.</i> <i>c.</i>	<i>F.</i> <i>g.</i>	<i>F.</i> <i>p.</i>
11	Z	Brilliant	řepka ozimá	24	0,84	5	-	+	+	-
16	Z	Mulan	mák setý	39	2,75	12	-	++	++	+
25	Z	Kerubino	kukuřice	3 328	4,40	568	+	++	+++	+
96	J	Radůza	kukuřice	3 858	2,99	25	-	++	+++	-
107	B	Magistr	kukuřice	2 811	5,14	24	-	++	+++	+
108	B	Mulan	kukuřice	1 258	4,29	54	-	++	+++	+
158	E	Bohemia	kukuřice	4 613	7,18	68	+	++	+++	-
169	B	Akteur	ječmen jarní	36	0,80	4	-	++	++	+
223	B	Kadrilj	kukuřice	2 904	2,69	42	+	++	+++	-
236	Z	Akteur	kukuřice	1 698	3,36	44	+	++	+++	+
249	S	Bohemia	cukrovka	324	0,49	8	-	++	+++	-
250	S	Mulan	řepka ozimá	20	0,36	5	-	++	++	-
255	S	Baryton	cukrovka	341	2,47	11	+	+	++	+
256	S	Baletka	cukrovka	423	2,24	66	+	++	+++	++
259	T	Cubus	kukuřice	2 517	4,33	28	+	++	+++	+
262	T	Etela	pšenice	8 954	14,10	89	+++	++	+++	+++
263	T	Dromos	kukuřice	3 042	2,99	34	-	++	+++	++
279	S	Ludwig	řepka ozimá	125	0,40	4	-	++	++	-
280	S	Darwin	pšenice ozimá	441	1,97	27	-	+	++	-
292	M	Bardotka	vojtěška	488	0,62	34	-	++	++	-
326	B	Hedvika	kukuřice	64	1,31	24	-	++	++	+++
346	Z	Mulan	kukuřice	503	2,98	14	-	++	++	-
347	Z	Hedvika	jetel	228	2,12	51	-	++	++	-
374	J	Mulan	řepka	87	1,17	17	-	++	+	-
376	J	Barryton	jetel	79	2,06	3	-	++	+	-
382	J	Ludwig	řepka ozimá	87	1,21	9	++	++	+	-
383	J	Eurofit	kukuřice	1 828	2,62	pod LOD	-	++	+++	-
392	J	Mulan	jetel	74	3,26	19	-	++	++	-
395	E	Ludwig	ječmen jarní	120	1,45	15	-	++	++	+++
397	T	Akteur	mák	557	2,66	2	++	-	++	++
399	T	Mulan	mák	94	4,75	6	++	++	++	-
404	M	Etela	proso	13 751	20,38	608	++	++	+++	-
407	M	Mulan	kukuřice	3 279	5,30	33	++	++	+++	-
450	S	Orlando	mák	157	2,75	4	-	+	++	-
471	S	Mulan	kukuřice	825	3,21	pod LOD	-	+	++	-

476	M	Bohemia	řepka ozimá	72	2,98	10	-	+	++	-
481	E	Rapsodia	pšenice ozimá	22	3,32	9	-	+	++	-
568	C	Brilliant	řepka	1 267	3,52	pod LOD	-	++	+++	-
569	B	Mulan	kukuřice	1 005	5,15	15	-	++	+++	+++
572	H	Mulan	řepka	47	2,13	4	-	++	++	+++
575	H	Mulan	mák	27	5,02	3	-	+	++	-
602	S	Akteur	kukuřice	2 994	6,41	51	-	++	+++	-
610	S	Topper	kukuřice	5 793	17,03	612	-	++	+++	-
643	J	Meritto-	pšenice oz.	468	3,88	3	+++	++	++	-
651	J	Meritto-	pšenice oz.	329	3,50	13	+	+++	++	-
668	U	Mulan-	kukuřice	2 035	4,06	15	+	++	+++	+++
672	J	Rapsodia	mák	131	7,75	pod LOD	+	++	++	-
713	J	Oraldo	jetel	88	5,25	113	++	++	++	-
716	P	Buteo	řepka ozimá	88	5,20	6	+	++	+++	-
720	C	Sulamit	jetel	161	10,97	2	+	++	+++	-
722	H	Bohemia	řepka ozimá	282	6,06	pod LOD	+	++	++	-
730	C	Mulan	kukuřice	118	8,82	pod LOD	+	++	++	-
734	J	Floret	mák	17	6,55	4	-	++	+	-
739	T	Meritto	mák	238	4,65	6	+	+	+++	++
741	T	Mulan	řepka	55	2,55	2	-	+	++	-
754	M	Akteur	soja	65	6,76	3	-	+	++	-
759	M	Bohemia	řepka ozimá	362	5,17	3	-	++	+++	-
762	S	Mulan	jetel	32	2,95	pod LOD	++	++	++	+
765	T	Rapsodia	řepka ozimá	3 559	11,76	91	+++	+++	+++	+++
777	J	Bohemia	řepka	698	1,85	pod LOD	++	++	+++	-

F. a. – *Fusarium avenaceum*, *F. c.* – *F. culmorum*, *F. g.* – *F. graminearum*, *F. p.* – *F. poae*.

+ přítomnost daného patogena (++ nebo +++ značí silnější proužek na gelu – intenzivnější přítomnost)

NA – nehodnoceno, neudáno

Kraje: A - Praha, S - Středočeský, U - Ústecký, L - Liberecký, K - Karlovarský, H - Královéhradecký, E - Pardubický, P - Plzeňský, C - Jihočeský, J - Vysočina, B - jihomoravský, M - Olomoucký, T - Moravskoslezský, Z - Zlínský

Tabulka 3. Vztahy mezi obsahem DON a podílem viditelně fuzariózních zrn (VFZ) ve vzorcích ozimé pšenice v závislosti na původu vzorků, 2009.

Označení skupiny vzorků	druh vzorků	počet vzorků	průkaznost/neprůkaznost korelačních koeficientů mezi parametry				
			DON/ FHB	DON/ VFZ1	DON/ VFZ2	DON/ VFZ3	DON/ ΣVFZ
Vzorky z celé ČR	přirozená infekce, 27 různých odrůd, různé lokality	60	NA	NA	NA	NA	0,74***
Sulamit 1 lokalita	přirozená infekce, různé předplodiny a zpracování půdy	12	0,89**	0,81**	0,05	0,42	0,81**
Sultan 1 lokalita	přirozená infekce, různé předplodiny a zpracování půdy	16	NA	0,39	0,04	0,53*	0,48
Karolinum 1 lokalita	inokulace, různé fungicidní kombinace, jeden pozemek	14	0,75**	0,81***	0,1	0,83	0,87***

NA – nehodnoceno, * průkazné ($P < 0,05$), ** vysoce průkazné ($P < 0,01$), *** velmi vysoce průkazné ($P < 0,001$)

Tabulka 4. Obsah DON, VFZ a druhy *Fusarium* spp., ozimá pšenice Sulamit, jedna lokalita, různé předplodiny, 2009. Každá varianta byla provedena ve čtyřech opakováních.

Varianta	Počet vzorků	DON (µg/kg)	VFZ1 (%)	VFZ2 (%)	VFZ3 (%)	Σ VFZ (%)	index FHB (%)	<i>F. a.</i>	<i>F. c.</i>	<i>F. g.</i>	<i>F. p.</i>
Kukuřice – bez orby	4	621	0,88	0,06	0,60	1,54	0,6	–	++	+++	+
Kukuřice – disk 10 cm	4	741	1,05	0,12	0,57	1,74	0,6	–	+	+++	++
Kukuřice – orba 15 cm	4	605	1,25	0,02	0,40	1,67	0,4	–	++	+++	–
Kukuřice – orba 22 cm	4	480	0,77	0,15	0,50	1,42	0,1	–	++	+++	–
Kukuřice průměr		612	0,99	0,09	0,52	1,59	0,4				
Hrách – bez orby	4	147	0,45	0,15	0,63	1,23	0,0	+++	+++	++	–
Hrách – disk 10 cm	4	117	0,61	0,12	0,52	1,25	0,0	–	++	+++	–
Hrách – orba 15 cm	4	119	0,12	0,20	0,64	0,97	0,0	–	++	+++	++
Hrách – orba 22 cm	4	269	0,43	0,40	0,80	1,63	0,3	+	++	+++	–
Hrách průměr		163	0,40	0,22	0,65	1,27	0,1				
Vojtěška – bez orby	4	145	0,38	0,01	0,31	0,70	0,0	–	++	+++	–
Vojtěška – disk 10 cm	4	162	0,51	0,05	0,22	0,78	0,1	–	++	+++	–
Vojtěška – orba 15 cm	4	125	0,44	0,01	0,12	0,57	0,0	–	++	+++	–
Vojtěška – orba 22 cm	4	122	0,19	0,06	0,18	0,43	0,0	+	++	+++	+++
Vojtěška průměr		139	0,38	0,03	0,21	0,62	0,0				

VFZ, FHB a určení *F.spp.* stanoveny z jednoho opakování

Tabulka 5. Obsah DON a VFZ, ozimá pšenice (odrůda Sultan), 2 předplodiny, přirozená infekce, Žabčice, 2009.

Číslo vz.	Předplodina	Opakování	Zpracování půdy	DON (µg/kg)	VFZ1 (%)	VFZ2 (%)	VFZ3 (%)	Σ VFZ (%)
7323	pšenice	1	orba	22	0,41	0,00	0,13	0,54
7324	pšenice	2	orba	39	0,15	0,08	0,14	0,37
7325	pšenice	3	orba	14	0,24	0,00	0,05	0,29
7326	pšenice	4	orba	46	0,33	0,02	0,14	0,49
7327	pšenice	1	kypření	60	0,47	0,05	0,28	0,81
7328	pšenice	2	kypření	48	0,55	0,04	0,10	0,69
7329	pšenice	3	kypření	40	0,63	0,02	0,13	0,78
7330	pšenice	4	kypření	44	0,66	0,20	0,30	1,16
7331	saflor	1	orba	16	0,07	0,07	0,11	0,25
7332	saflor	2	orba	31	0,08	0,13	0,24	0,45
7333	saflor	3	orba	32	0,42	0,05	0,13	0,60
7334	saflor	4	orba	17	0,19	0,04	0,09	0,32
7335	saflor	1	kypření	13	0,28	0,17	0,26	0,71
7336	saflor	2	kypření	25	0,28	0,13	0,21	0,62
7337	saflor	3	kypření	77	0,36	0,10	0,30	0,76
7338	saflor	4	kypření	42	1,08	0,03	0,22	1,33

Tabulka 6. Ozimá pšenice Karolinum, obsah DON, ZEA a VFZ, 3 termíny aplikace, fungicidní ošetření, Kroměříž 2009.

Číslo vz.	Fungicid	Dávka (l/ha)	Termín aplikace	DON (µg/kg)	ZEA (µg/kg)	VFZ1 (%)	VFZ2 (%)	VFZ3 (%)	Σ VFZ (%)	FHB (%)	F. a.	F. c.	F. g.	F. p.
4273	AMISTAR	0,8	T1	20 678	753	13,2	0,0	7,0	20,3	53,3	-	+++	+++	+
4274	FANDANGO	1,2	T1	1 165	29	1,0	0,1	0,5	1,6	9,3	-	+++	++	-
4275	SWING TOP	1,2	T1	19 990	813	9,0	0,0	6,7	15,7	40,1	-	+++	+++	++
4276	HORIZON	1,0	T1	10 653	365	6,5	0,0	2,1	8,6	17,1	-	+++	+++	++
4277	KONTROLA	NA	T1	34 184	1 080	17,5	0,0	50,5	68,0	94,0	-	+++	++	-
4278	AMISTAR	0,8	T2	27 563	785	23,9	0,0	26,1	50,0	53,4	+	+++	+	-
4279	FANDANGO	1,2	T2	19 584	575	10,3	0,0	6,8	17,2	6,8	+	+++	++	+
4280	SWING TOP	1,2	T2	14 702	529	9,9	0,0	4,6	14,5	22,2	+	+++	++	++
4281	HORIZON	1,0	T2	20 462	613	10,8	0,0	8,6	19,4	17,4	+	+++	+++	-
4282	KONTROLA	NA	T2	35 229	998	18,0	0,1	39,3	57,4	89,1	+	+++	++	-
4283	AMISTAR	0,8	T3	19 180	620	20,0	0,0	24,0	43,9	54,0	+	++	+++	-
4271	FANDANGO	1,2	T3	11 020	190	10,0	0,0	6,7	16,7	8,4	+	++	+	+
4284	SWING TOP	1,2	T3	5 660	70	7,2	0,0	2,6	9,8	31,4	+	+	-	-
4285	HORIZON	1,0	T3	6 580	1 100	8,9	0,0	8,0	16,9	17,9	+	++	+++	-
4286	KONTROLA	NA	T3	18 900	540	12,7	0,1	24,2	37,0	89,0	+	++	+++	-

Termín aplikace T1: 7 dní před inokulací, T2: v termínu inokulace, T3: 7 dní po inokulaci.

Tabulka 7. Obsah DON a VFZ, jarní ječmen (odrůdy Prestige a Sebastian), předplodina kukuřice, fungicidní ošetření, inokulace, Kroměříž, 2009.

Číslo vzorku	Odrůda	Fungicid	Dávka (l/ha)	DON (µg/kg)	VFZ1	VFZ2	Σ VFZ
					(%)	(%)	(%)
09-3695	Prestige	Amistar	0,8	3 094			
09-3696	Prestige	Swing	1,5	2 140			
09-3697	Prestige	Prosaro	0,75	2 422			
09-3698	Prestige	Kontrola		3 535			
09-3727	Sebastian	Amistar	0,8	3 973			
09-3728	Sebastian	Swing	1,5	2 864			
09-3729	Sebastian	Prosaro	0,75	2 029			
09-3730	Sebastian	Kontrola		5 993			

Tabulka 8. Vztahy mezi obsahem DON a podílem viditelně fuzariózních zrn (VFZ) ve vzorcích jarního ječmene v závislosti na původu vzorků, 2009.

Označení skupiny vzorků	druh vzorků	počet vzorků	průkaznost/neprůkaznost korelačních koeficientů mezi parametry			
			DON/FHB	DON/VFZ1	DON/VFZ2	DON/ΣVFZ
Prestige 1 lokalita	inokulace, fungicidy, po kukuřici	4	NA	0,41	0,19	0,34
Sebastian 1 lokalita	inokulace, fungicidy, po kukuřici	4	NA	-0,08	-0,47	-0,28

N/A – nehodnoceno, * průkazné (P < 0,05), ** vysoce průkazné (P < 0,01), *** velmi vysoce průkazné (P < 0,001)

Tabulka 9. Obsah DON a VFZ, 3 odrůdy ozimé pšenice, tři předplodiny, přirozená infekce, Kroměříž, 2009.

Předplodina	odrůda	DON (µg/kg)	VFZ1 (%)	VFZ2 (%)	VFZ3 (%)	Σ VFZ (%)
kukuřice	Akteur	358	0,40	0,09	0,23	0,72
	Cubus	710	0,96	0,04	0,41	1,41
	Meritto	849	0,90	0,17	0,63	1,70
průměr kukuřice		639	0,76	0,10	0,42	1,28
ječmen	Akteur	30	0,64	0,10	1,02	1,76
	Cubus	62	0,25	0,24	0,27	0,76
	Meritto	90	1,02	0,02	0,61	1,65
průměr ječmen		61	0,64	0,12	0,63	1,39
vojtěška	Akteur	122	0,40	0,03	0,39	0,83
	Cubus	62	0,41	0,09	0,28	0,78
	Meritto	99	0,83	0,15	1,11	2,10
průměr vojtěška		94	0,55	0,09	0,60	1,24

Tabulka 10. Výskyt patogenů *Fusarium* na vzorcích pšenice, 60 vzorků, ČR, 2009

Počet druhů Vzorky Počet vzorků druh *Fusarium*

<i>Fusarium</i>				<i>F. a.</i>	<i>F. c.</i>	<i>F. g.</i>	<i>F. p.</i>
	počet	%	analyzovaných	60	60	60	60
žádný druh	0	0,0	Negativních (-)	34	1	0	40
1 druh	0	0,0	Pozitivních (+)	15	11	5	9
2 druhy	25	41,7	Pozitivních (++)	8	46	29	4
3 druhy	25	41,7	Pozitivních (+++)	3	2	26	7
			celkem				
4 druhy	10	16,7	pozitivních	26	59	60	20
>1 druh	60	100,0					

Tabulka 11. Obsah DON a druhy *Fusarium* spp. pro vzorky ječmene z ČR, 2009.

Číslo MT	Kraj	Odrůda	Předplodina	DON (µg/kg)	druh <i>Fusarium</i>				fung. ochr.
					<i>F. a.</i>	<i>F. c.</i>	<i>F. g.</i>	<i>F. p.</i>	
3	Z	Prestige	kukuřice	649	+	-	+	+	ano
7	U	Bojos	kukuřice	2 449	+	-	+	+	ano
11	Z	Bojos	kukuřice	459	+	-	+	+	ano
20	T	Bojos	cukrovka	470	+	-	+	+	ano
22	B	Bojos	kukuřice	220	-	-	+	+	ano
24	M	Prestige	NA	85	-	-	+	+	NA
26	B	Prestige	kukuřice	1 985	+	-	+	+	ano
28	B	Bojos	kukuřice	1 942	+	-	+	+	ano
29	T	Bojos	kukuřice	374	+	-	+	+	ano
32	B	Prestige	kukuřice	7 050	+	-	+	+	ano
34	C	Bojos	pšenice ozimá	80	+	-	+	+	ano
36	H	Tolar	kuřice	959	+	-	+	-	ano
37	B	Tolar	kuřice	1 845	+	-	+	+	ne
42	B	Bojos	pšenice ozimá	205	-	-	+	+	ano
43	E	Bojos	kukuřice	961	+	-	+	+	ano
53	B	Bojos	pšenice	162	-	-	+	+	NA
61	P	Bojos	hrách	468	+	-	+	+	NA
65	B	Prestige	kukuřice	1 067	+	-	+	+	ano
68	Z	Bojos	kukuřice	1 145	+	-	+	+	ano
78	S	Jersey	kukuřice	31	+	-	-	+	ano
89	M	Bojos	kukuřice	423	+	-	+	+	ano
98	S	Prestige	pšenice ozimá	347	+	-	+	+	NA
99	J	Bojos	kukuřice	325	+	-	+	+	ano
100	M	Prestige	cukrovka	271	+	-	+	+	ano
118	M	Bojos	řepka	161	+	-	+	+	ano
133	T	Bojos	kukuřice	2 948	+	-	+	+	ano
135	E	Bojos	kukuřice	2 356	+	-	+	+	ano
153	U	Bojos	kukuřice	1 400	+	-	+	+	ano
166	Z	Bojos	pšenice ozimá	292	-	-	+	+	ano
168	M	Prestige	cukrovka	277	+	-	+	+	ano
173	S	Prestige	pšenice ozimá	372	+	-	+	+	ano
179	M	Bojos	kukuřice	1 152	+	-	+	+	ano
191	U	Bojos	pšenice ozimá	394	+	-	+	+	ano
200	Z	Bojos	ječmen	525	+	-	+	+	ano
224	C	Bojos	pšenice	106	-	-	+	+	ano
227	J	Jersey	kukuřice	194	+	-	+	+	ano
228	J	Prestige	brambory	422	+	-	+	+	NA

224	C	Bojos	pšenice	2 479	+	-	+	+	ano
238	C	Bojos	pšenice ozimá	82	-	-	+	+	NA
252	J	Bojos	kukuřice zrno	1 261	+	-	+	+	NA
263	B	Prestige	NA	437	+	-	+	+	NA
268	U	Bojos	slunečnice	21	-	-	-	-	NA
277	J	Bojos	kukuřice	519	+	-	+	-	ano
280	J	Bojos	kukuřice	1 606	+	-	+	+	NA
286	B	Bojos	pšenice ozimá	200	-	-	+	+	ano
296	J	Jersey	kukuřice	200	+	-	+	+	ano
299	T	Bojos	řepka	2 287	+	-	+	+	NA
304	S	Jersey	kukuřice	56	+	-	+	+	ano
339	B	Prestige	kukuřice	2 782	+	-	+	+	NA
421	S	Jersey	cukrovka	161	+	-	+	+	ano

F. a. – *Fusarium avenaceum*, *F. c.* – *F. culmorum*, *F. g.* – *F. graminearum*, *F. p.* – *F. poae*.
+ přítomnost daného patogena, NA – nehodnoceno, neudáno

Kraje: A - Praha, S - střeďočeský, U - ústecký, L - liberecký, K - Karlovarský, H - Královéhradecký, E - Pardubický, P - Plzeňský, C - Jihočeský, J - Vysočina, B - jihomoravský, M - olomoucký, T - moravskoslezský, Z - zlínský

Tabulka 12. Výskyt patogenů *Fusarium* na vzorcích ječmene, 50 vzorků, ČR, 2009

Počet druhů <i>Fusarium</i>	Vzorky		Počet vzorků	druh <i>Fusarium</i>			
	počet	%		<i>F. a.</i>	<i>F. c.</i>	<i>F. g.</i>	<i>F. p.</i>
žádný druh	1	2,0	analyzovaných	50	50	50	50
1 druh	0	0,0	negativních	9	50	2	3
2 druhy	11	22,0					
3 druhy	38	76,0	pozitivních	41	0	48	47
4 druhy	0	0,0					
>1 druh	49	98,0					

Tabulka 13. Vztahy mezi obsahem deoxynivalenolu (DON), zearalenonu (ZEA) a vizuálně fuzariózních zrn (VFZ) pro vzorky z různých oblastí ČR, 2006-2009

Korelační koeficienty	<i>n</i>	DON/ VFZ	DON/ ZEA	ZEA/ VFZ
<i>Monitoring ČR</i>				
pšenice 2006	60	0,75***	0,64**	0,52*
pšenice 2007	60	0,82***	0,62***	0,61***
pšenice 2008	58	0,58***	0,55***	0,63***
pšenice 2009	60	0,79***	0,69***	0,66**

*Průkaznost: * pro p=0,05; ** pro p=0,01; *** pro p=0,001*

Tabulka 14. Vztahy mezi obsahem deoxynivalenolu (DON), indexu napadení FHB a jednotlivých kategorií vizuálně fuzariózních zrn (VFZ) pro ozimou pšenici Sulamit, 1 lokalita, 2006-2009

Korelační koeficienty	DON/ FHB	DON/ ΣVFZ	DON/ VFZ1	DON/ VFZ2	DON VFZ3
Sulamit 2006	0,16	0,50	-0,25	0,24	0,66*
Sulamit 2007	0,64*	0,87**	0,87**	0,17	0,76**
Sulamit 2008	0,57	-0,28	0,41	-0,62*	-0,09
Sulamit 2009	0,89**	0,81**	0,81**	0,05	0,42

Průkaznost: * pro $p=0,05$; ** pro $p=0,01$

Tabulka 15. Vztahy mezi obsahem deoxynivalenolu (DON), indexu napadení FHB a jednotlivých kategorií vizuálně fuzariózních zrn (VFZ) pro ozimou pšenici, inokulace, 1 lokalita, 2006-2009

Korelační koeficienty	n	DON ΣVFZ	DON FHB	DON VFZ1	DON VFZ2	DON VFZ3
Clever /VB 2006	23	0,94***	NA	0,94***	0,92***	0,30
Ebi 2006	30	0,82***	0,23	0,78***	-0,19	0,46*
3 odrůdy 2006	30	0,77***	0,74***	0,55**	0,22	0,91***
9 odrůd 2007	27	0,92***	NA	0,92***	-0,16	0,63***
Clever /VB 2007	21	0,88***	NA	0,88***	-0,18	0,72***
Ludwig 2008	15	0,87***	0,28	0,85***	0,81***	0,34
Barroko /VB 2008	16	0,69**	NA	0,76**	0,00	-0,10
Karolinum 2009	14	0,87***	0,75**	0,81***	0,1	0,83***

Průkaznost: * pro $p=0,05$; ** pro $p=0,01$; *** pro $p=0,001$

Tabulka 16. Vztahy mezi obsahem deoxynivalenolu (DON), indexu napadení FHB a jednotlivých kategorií vizuálně fuzariózních zrn (VFZ) pro jarní ječmen, inokulace, 1 lokalita, 2006-2009

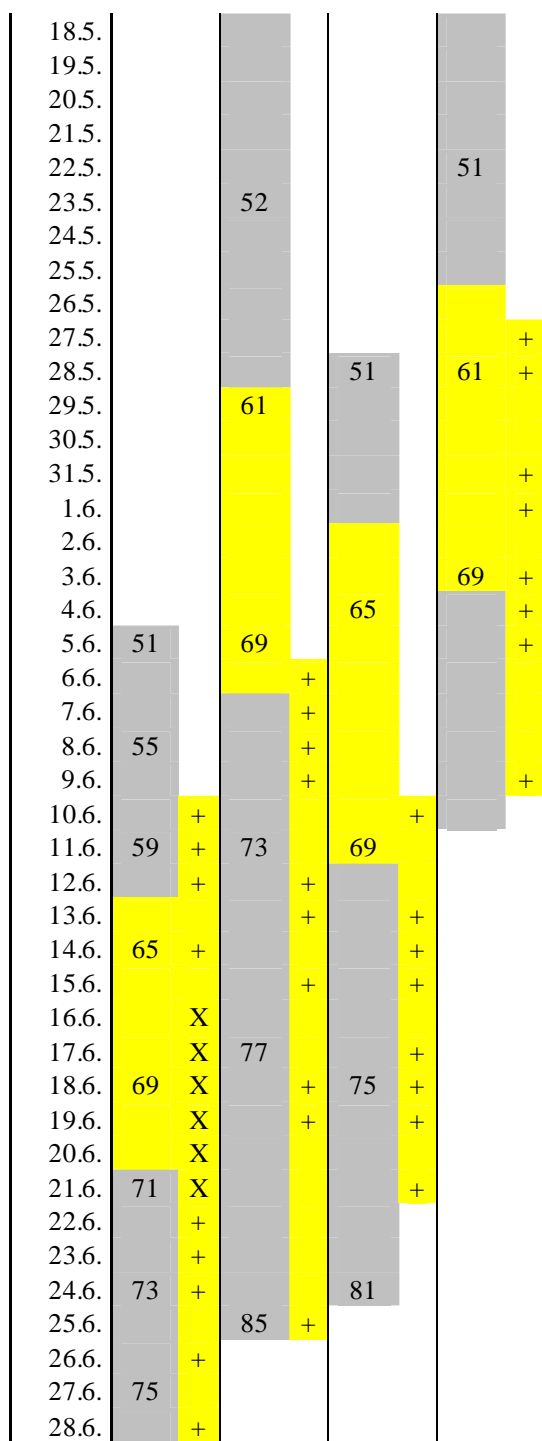
Korelační koeficienty	n	DON ΣVFZ	DON FHB	DON VFZ1	DON VFZ2
Prestige + Malz 2006	13	NA	0,66*	NA	NA
Prestige 2007	12	0,74**	0,71**	0,79**	-0,01
Jersey 2007	10	0,85**	0,33	0,87**	-0,52
Jersey / cukrovka 2008	12	0,58*	NA	0,63*	0,48
Jersey, Prestige / obilovina 2008	13	0,53	NA	0,64*	0,12
Prestige/ kukuřice 2009	4	0,34	NA	0,41	0,19
Sebastian / kukuřice 2009	4	-0,08	NA	-0,47	-0,28

Tab. 17. Charakteristiky hlavních tří skupin získaných hierarchickou shlukovou analýzou deskriptorů tvaru a barvy.

Skupina	Počet	Procentní podíl zrn				hmotnost [mg]	DON [mg/kg]
		zdravá	VFZ1	VFZ3	< 2,5mm		
Ia	16	25,0	56,3	18,8	44	22	176,0
Ib	9	55,6	22,2	22,2	100	17	17,74
II	15	66,7	33,3	0,0	0	47	27,69

Tabulka 18. Záznam záchytu askospor *Giberella zeae* na pásce lapače, Kroměříž, 2006-2009.

Datum	2007	2007	2008	2009
14.5.				37
15.5.				
16.5.				
17.5.		50		



X - porucha napájení, Číslo - růstová fáze obiloviny (BBCH), + záchyt askospor *Giberella zeae*

období sledování
 období kvetení
 období záchytu askospor

Tab. 19: Průměrné hodnoty DON na sledované lokalitě (mg/kg) a podíl (%) pozitivních vzorků v ČR v daném roce.

	2006	2007	2008	2009
DON na lokalitě KM (mg/kg)	0,182	0,817	0,162	0,639

Podíl pozitivních vzorků ČR 5,1 6,7 4,9 5,3
(%)

Údaje o výskytu DON v ČR získány z publikací [23], [24], [27].

Tab. 20: Úhrn srážek a počet dní se srážkami >2 mm, Kroměříž, 2006-2009.

	2006	2007	2008	2009
7 dní před kvetením	5,7 (1)	17,8 (3)	0,0 (0)	3,5 (1)
období kvetení	0,0 (0)	9,4 (1)	17,3 (3)	36,3 (4)
10 dní po kvetení	90,5 (4)	26,4 (4)	0,9 (0)	23,3 (3)

Tab. 21. Výskyt patogenů *Fusarium* spp., obsah fuzariózních zrn a fuzáriových mykotoxinů, ozimá pšenice, ČR, 2006 - 2009, 240 vzorků.

	sklizeň 2006		sklizeň 2007		sklizeň 2008		sklizeň 2009	
	DON (µg/kg)	VFZ (%)	DON (µg/kg)	VFZ* (%)	DON (µg/kg)	VFZ (%)	DON (µg/kg)	VFZ (%)
průměr	1 330	1,3	960	1,6	1 315	4,4	2 680	3,5
medián	731	1,1	635	1,3	326	3,3	1 330	1,7
min	213	0,0	pod LOD	0,3	20	0,4	141	0,4
max	4 995	4,5	4 543	7,3	13 751	20,4	20 292	48,2
<i>F. avenaceum</i>	40		10		1		26	
<i>F. culmorum</i>	2		6		14		59	
<i>F. graminearum</i>	48		53		36		60	
<i>F. poae</i>	40		20		4		20	

* 58 vzorků

Tab. 22. Vliv ročníku, předplodiny a zpracování půdy na DON, FHB a obsah fuzariózních zrn, ozimá pšenice, odrůda Sulamit, 1 lokalita, 2006-2009, 48 vzorků. Významné členy na hladině spolehlivosti 0,95 jsou vyznačeny kurzívou.

Parametr/ faktor/	rok	předplodina	zpracování půdy	rok:předpl	rok:orba
DON	<i>0,000</i>	<i>0,000</i>	0,927	0,071	0,965
VFZ1	<i>0,000</i>	<i>0,000</i>	0,102	<i>0,001</i>	0,157
VFZ2	<i>0,000</i>	0,108	0,811	0,277	0,754
VFZ3	<i>0,000</i>	<i>0,000</i>	0,743	<i>0,001</i>	0,644
VFZ	<i>0,000</i>	<i>0,000</i>	0,062	<i>0,000</i>	0,178
FHB	<i>0,000</i>	<i>0,000</i>	0,083	<i>0,000</i>	0,105

Tab. 23. Vliv ročníku na výskyt patogenů *Fusarium* spp., obsah fuzariózních zrn a fuzáriových mykotoxinů, ozimá pšenice, 1 lokalita, odrůda Sulamit, 2006-2009.

Rok (počet vzorků)	DON (µg/kg)	FHB (%)	VFZ (%)	<i>Fusarium</i>				
				<i>avenaceum</i>	<i>culmorum</i>	<i>graminearum</i>	<i>poae</i>	celkem
2006	563	0,33	1,29	10	3	12	10	35

(12)								
2007 (12)	1233	2,28	2,99	4	2	10	1	17
2008 (12)	147	0,48	1,01	0	0	2	0	2
2009 (12)	304	0,17	1,16	3	12	12	4	31
	celkem			17	17	36	15	

Tab. 24. Výskyt patogenů *Fusarium* spp., obsah fuzariózních zrn a fuzáriových mykotoxinů, jarní ječmen, ČR, 2006- 2009, 190 vzorků.

	DON (µg/kg)			
	2006 (40 vzorků)	2007 (50 vzorků)	2008 (50 vzorků)	2009 (50 vzorků)
průměr	147	325	205	933
medián	63	199	70	430
min	pod LOD	pod LOD	pod LOD	pod LOD
max	1 599	1 738	3 710	7 050
<i>F. avenaceum</i>	12	0	0	41
<i>F. culmorum</i>	0	0	0	0
<i>F. graminearum</i>	4	7	4	48
<i>F. poae</i>	17	50	32	47

Tab. 25. Výskyt patogenů *Fusarium* spp. po různých předplodinách, ozimá pšenice, ČR, 2006- 2009, 240 vzorků.

předplodina	vzorků	<i>F. a.</i>	<i>F. c.</i>	<i>F. g.</i>	<i>F. p.</i>
kukuřice	79	16	24	72	27
řepka	48	11	19	33	12
obilovina	26	6	13	23	11
ostatní	57	19	24	45	22
Pearsonův chí-kv.		0,356	0,263	0,010	0,384

Průkazné hodnoty napsány kurzívou

Tab. 26. Výskyt patogenů *Fusarium* spp. po různých předplodinách, jarní ječmen, ČR, 2006- 2009, 190 vzorků.

předplodina	vzorků	<i>F. a.</i>	<i>F. c.</i>	<i>F. g.</i>	<i>F. p.</i>
kukuřice	84	30	0	32	68
obilovina	46	10	0	14	31
ostatní	50	11	0	15	42
Pearsonův chí-kv.		0,121	žádný výskyt	0,536	0,104

Tab. 27. Průměrné hodnoty DON, FHB a fuzariózních zrn a počet zjištěných druhů *Fusarium* spp. pro různé předplodiny, ozimá pšenice, odrůda Sulamit, 1 lokalita, 2006-2009, 48 vzorků.

Předpl. (počet vzorků)	DON (µg/kg)	FHB (%)	VFZ (%)	<i>Fusarium</i>				
				<i>avenaceum</i>	<i>culmorum</i>	<i>graminearum</i>	<i>poae</i>	celkem
Kukuřice (16)	1,287*	2,06*	1,67*	7	6	12	5	30
Hrách (16)	0,594	0,76	1,11	4	6	12	6	28
Vojtěška (16)	0,368	0,43	0,94	6	5	12	4	27

* průkazný rozdíl od ostatních předplodin

Tab. 28. Průměrné hodnoty DON, FHB a fuzariózních zrn a počet zjištěných druhů *Fusarium* spp. pro různé zpracování půdy, ozimá pšenice, odrůda Sulamit, 1 lokalita, 2006-2009, 48 vzorků.

Zprac. půdy (počet vzorků)	DON (µg/kg)	FHB (%)	VFZ (%)	<i>Fusarium</i>				
				<i>avenaceum</i>	<i>culmorum</i>	<i>graminearum</i>	<i>poae</i>	celkem
bez orby (12)	518	0,6	1,47	5	6	10	3	24
disk 10 cm (12)	626	0,8	1,89	4	4	9	4	21
orba 15 cm (12)	542	0,7	1,59	4	3	9	4	20
orba 22 cm (12)	562	1,1	1,61	4	3	8	4	19

Obr. 1. Příklad vizuálně fuzariózního zrna (VFZ), hodnocený do kategorie VFZ1: zrna s typicky změněnou barvou (bělavá, narůžovělá), standardně vyvinuté.



foto: O. Jirsa

Obr. 2. Příklad zrna, hodnocený do kategorie VFZ2: zrna zrna scvrklé, normální barvy



foto: O. Jirsa

Obr. 3. Příklad vizuálně fuzariózního zrna (VFZ), hodnocený do kategorie VFZ3: zrna scvrklé, se změněnou barvou (růžová, bělavá nebo šedá zrna)



foto: O. Jirsa

Obr. 4. Perithecium *Giberella zeae*, 14.5.2009.

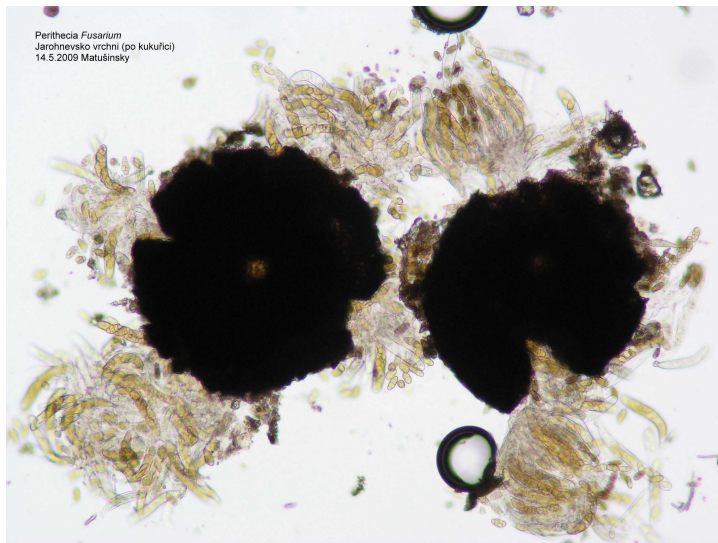


foto: P. Matušinsky

Obr. 5. Vřečka s dosud nezralými askosporami *Giberella zeae*, 14.5.2009.

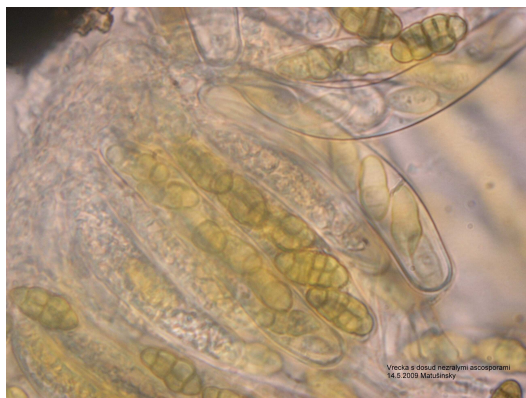


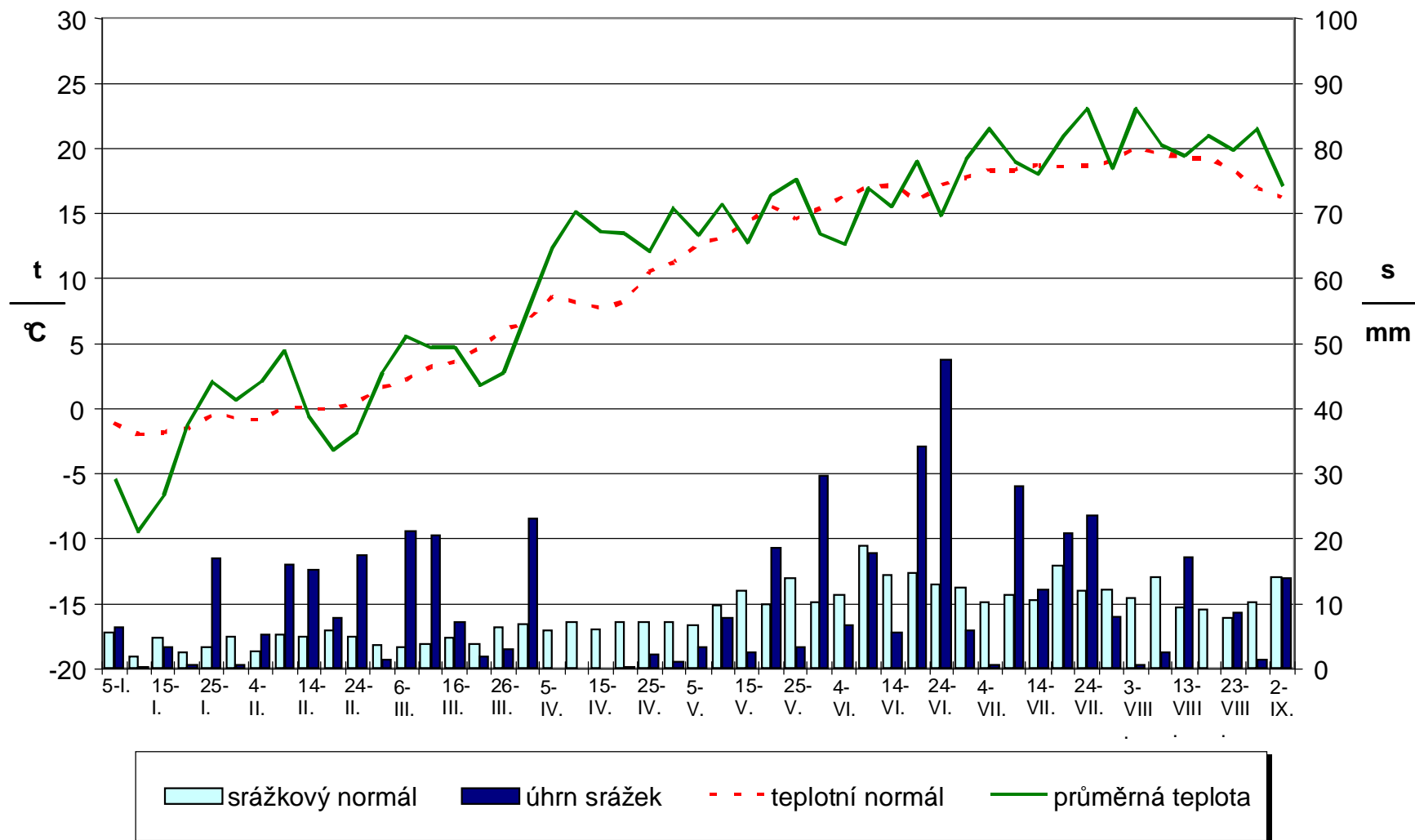
foto: P. Matušinsky

Obr. 6. Zralé askospory *Giberella zeae*, 28.5.2008.

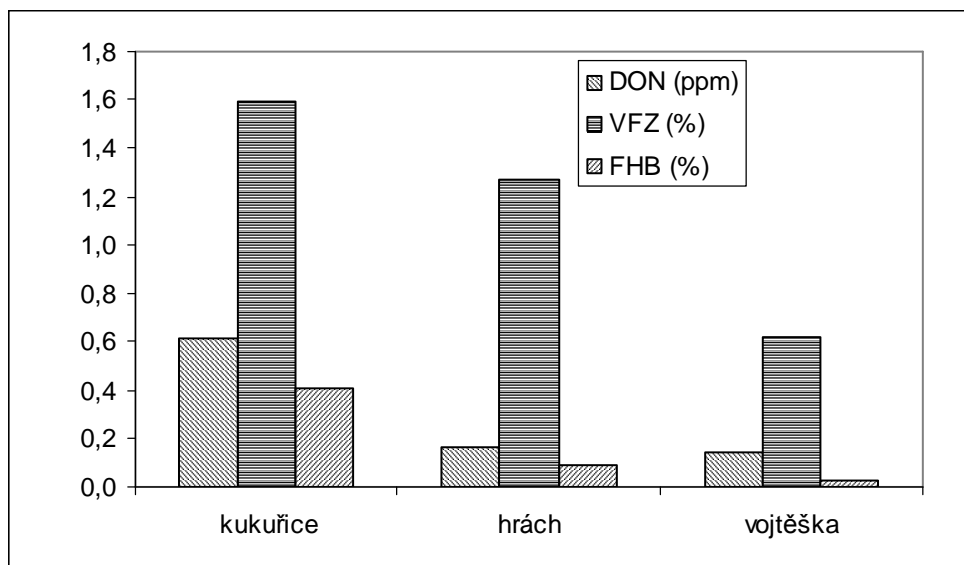


foto: P. Matušinsky

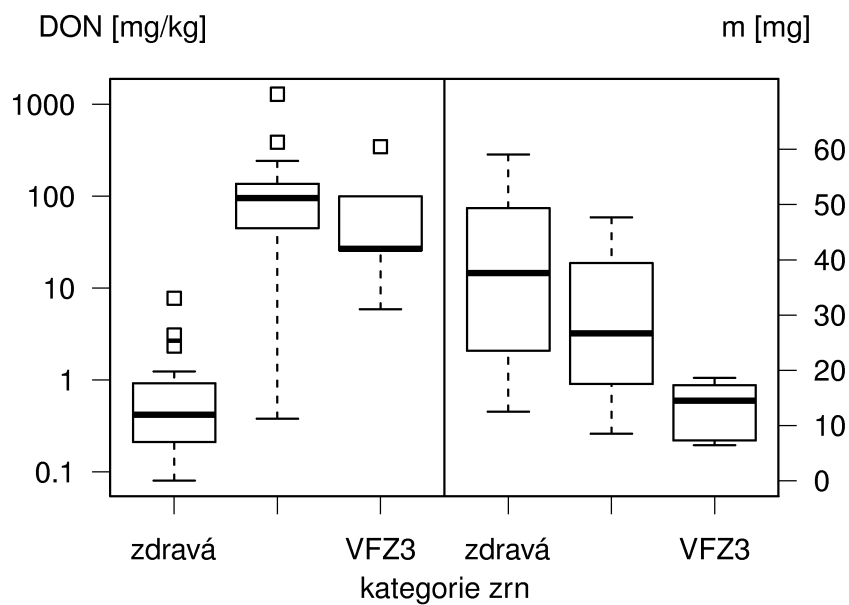
Obr 7. Povětrnostní podmínky v době od 1.1. do 31.8. 2009, Kroměříž, 235 m.n.m.



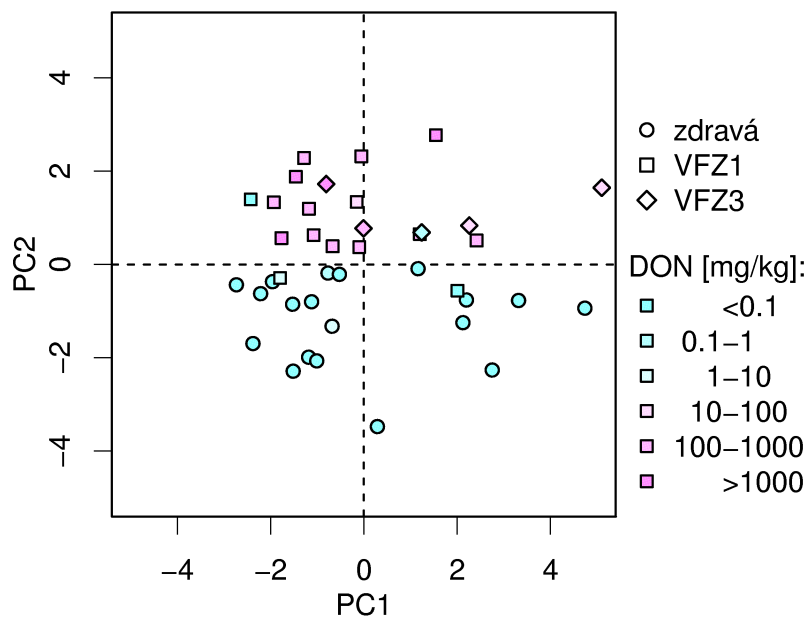
Obr. 8. Obsah deoxynivalenolu (DON), celkový obsah fuzariózních zrn (VFZ) a index napadení klasovými fuzárií (FHB), různé předplodiny, oz. pš. Sulamit, 2009.



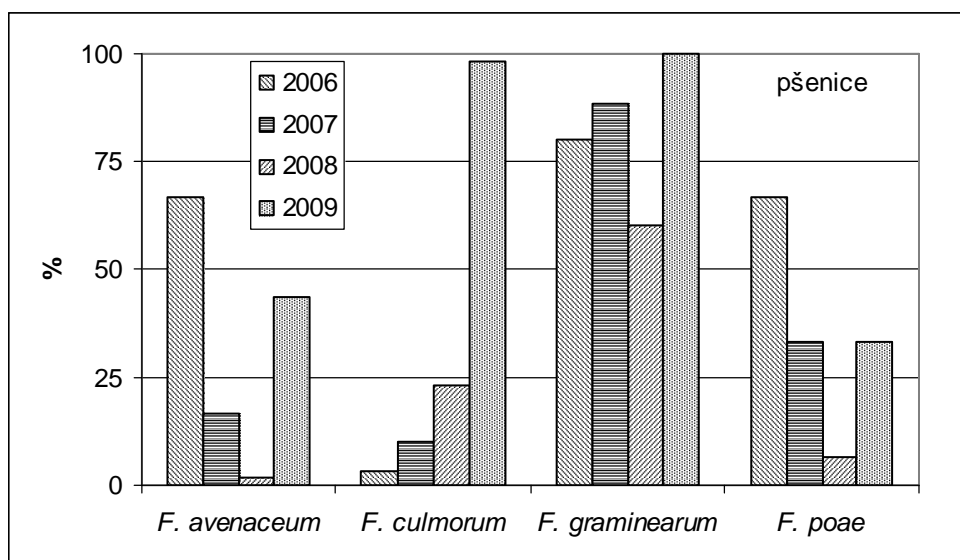
Obr. 9. Charakteristika obsahu DON a hmotnosti pro jednotlivé skupiny (zdravá zrna, VFZ1, VFZ3).



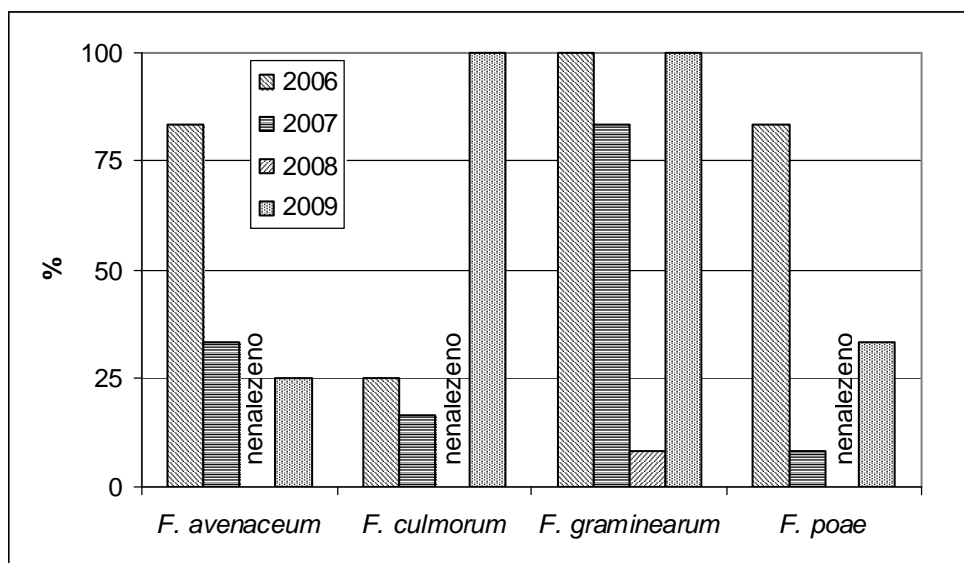
Obr. 10. Graf komponentního skóre z PCA analýzy deskriptorů barvy (RGB, HSV) získaných ze snímků zrn pšenice.



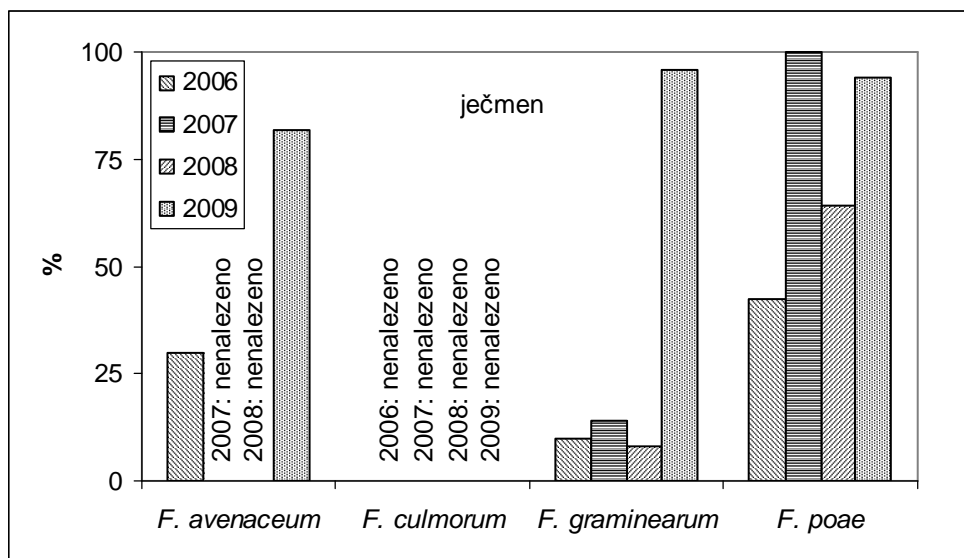
Obr. 11. Podíl jednotlivých druhů *Fusarium*, ozimá pšenice, vzorky celá ČR, 60 vzorků v každém z let 2006-2009.



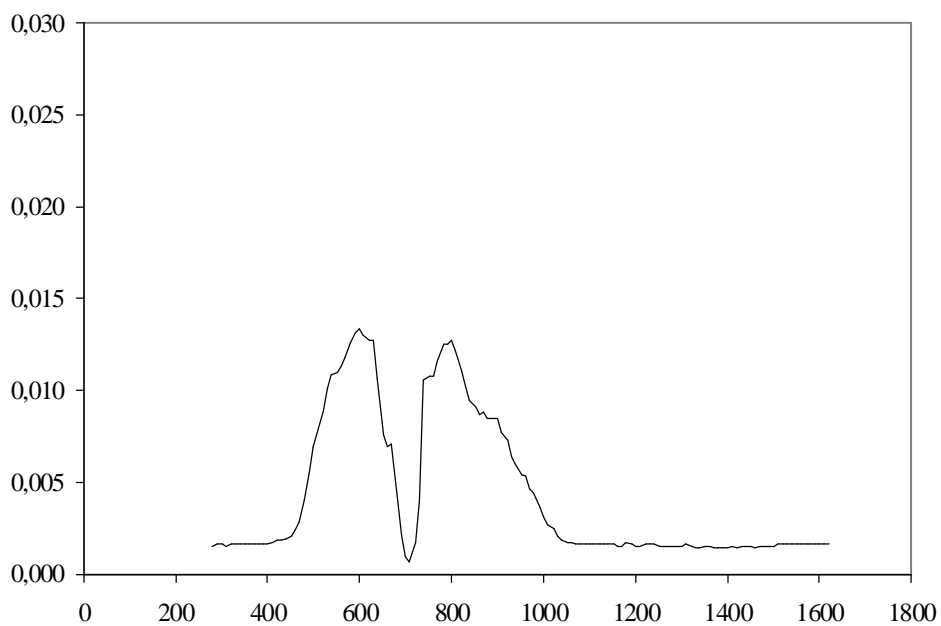
Obr. 12. Podíl jednotlivých druhů *Fusarium*, ozimá pšenice, 1 lokalita, odrůda Sulamit, 2006-2009.



Obr. 13. Podíl jednotlivých druhů *Fusarium*, jarní ječmen, vzorky celá ČR, 2006 (40 vzorků), 2007 (50 vzorků), 2008 (50 vzorků) a 2009 (50 vzorků).



Obr 14. Znázornění variability (konfidenční intervaly) v odezvě spektrální odrazivosti pro jednotlivé vlnové délky.



Obr. 15. Analogický charakter korelací DON a VFZ s hodnotami reflektance. Pšenice Ludwig, 2008.

