

Zemědělský výzkumný ústav
Kroměříž, s. r. o.
Havlíčkova 2787
767 01 Kroměříž
tel.: 573 317 138
573 317 141
www.vukrom.cz



OBILNÁŘSKÉ LISTY 5/2003

Časopis pro agronomy
nejen s obilnářskými informacemi
XI. ročník

P.P.
O.P. 713 13/02
767 01 Kroměříž 1



Dožínkový průvod na Valašsku – Rožnov pod Radhoštěm

foto: L. Tvarůžek

Z obsahu:

- ✓ Problematika fuzárií v půdě a na zrně pšenice
- ✓ ochrana obilnin proti plevelem na podzim
- ✓ Agrokrom – pro práci s mapou
- ✓ poškození cukrovky housenkami

Metody rychlé izolace fytopatogenních hub rodu *Fusarium spp.* ze vzorků zrna a z půdy

Ludvík Tvarůžek¹⁾ a Lijing Ji²⁾

- 1) Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž, s.r.o.
- 2) Postgraduální student, Agricultural University of Hebei, College of Plant Protection, Baoding, P. R. China

Úvod

Mnoho již bylo řečeno o problematice fuzárií a jejich škodlivosti pro produkci potravin a krmiv rostlinného původu. Velká pozornost je v rovinutých zemích věnována tzv. „zdravým potravinám“, snížení rizika výskytu mykotoxinů a využívání potravin rostlinného původu, které byly pěstovány při minimálním používání pesticidů. Výskyt mykotoxinů v obilovinách má velký význam, protože pokud se touto dostanou do potravin

a krmiv, jsou často spojovány s chronickými až akutními mykotoxikózami dobytka a v menší míře také lidí.

Výskyt fuzárií je přímo ovlivňován pěstitelskými postupy, rotací plodin v rámci osevních sledů a klimatickými podmínkami. Zdroje infekce, pocházející z napadených posklizňových zbytků, mohou přežívat v půdě po dlouhou dobu a být tak významným zdrojem možné infekce následných plodin.

Zajímavé srovnání nám poskytuji výsledky hodnocení zdravotního stavu ozimů, prováděné na našem pracovišti každoročně v jarním období. V tabulce 1 jsou uvedeny rozdružující předplodiny porostů ozimých pšenic podle výsledků z jara 2003. Vysoké napadení plísni sněžnou (*Microdochium nivale*) bylo podobně jako v minulých letech zjištěno i po zlepšující předplodině, v tomto případě máku a to přibližně na stejně úrovni jako po předplodině obilnině. Vyšší výskyt fuzárií (*Fusarium spp.*) jsme zaznamenali jak po kukuřici, tak po jeteli a konečně pravý stéblolam (*Pseudocercospora herpotrichoides*) i při relativně nižším procentu výskytu, který je charakteristický pro poslední sezóny, byl podle očekávání nejčastější po předplodině pšenici. Především v případě plísni sněžné je patrné, že úroveň zamoření půdního prostředí je v našich osevních sledech obecně vysoká v rámci širokého spektra předplodin, a že nelze předem, bez exaktního vyhodnocení usuzovat na potenciálně malé, či vysoké nebezpečí napadení určitou chorobou.

Tab. 1: Napadení vybranými chorobami pat stébel ozimé pšenice na jaře roku 2003 po různých předplodinách

	% plíseň sněžná		% fuzárijní hnilička		% stéblolam
MÁK	37,98	JETEL	14,29	PŠENICE	3,75
PŠENICE	35,33	KUKUŘICE	13,19	ŘEPKA	2,79
JEČMEN	33,24	MÁK	7,80	HRÁCH	2,04
JETEL	27,90	PŠENICE	7,32	KUKUŘICE	1,92
KUKUŘICE	27,00	HRÁCH	6,80	JEČMEN	1,15
HRÁCH	25,78	ŘEPKA	6,49	JETEL	0,84
ŘEPKA	25,16	JEČMEN	4,84	MÁK	0,40

Pro hodnocení kontaminace půdy fuzárií a pro hodnocení napadení zrna obilnin fuzárií po sklizni jsme vyzkoušeli dvě expedativní metody, s jejichž využitím je možné při relativně nízkých nákladech zjistit aktuální výskyt fytopatogenních hub.

Materiál a metody

Analýzy roku 2002

Charakteristika vzorků půdy a osiva pšenice ozimé, použité k testům

Přibližně 1 kg vzorky půdy byly odebrány z 10 pozemků zemědělského podniku „Rovina“ Hulín na počátku září 2002. V posledním vegetačním ročníku byla na všech vybraných pozemcích pěstována ozimá pšenice a to po různých předplodinách: kukuřici, máku, jarním ječmeni, ozimé řepce a ozimé pšenici.

Vzorky zrna, každý o hmotnosti 1 kg, byly již dříve odebrány při sklizni pšenice na stejných polích. Jednalo se o následující odrůdy:

APACHE, BANQUET, BATIS, CLEVER, COMPLET, MUNK, NELA a SULAMIT.

Izolace *Fusarium spp.* ze vzorků půdy

Pro tento účel byla jako výchozí využita tzv. „metoda návady“, kterou popsal Ameling v roce 1997. Postup je následující: odebraný vzorek půdy je rozdržen na jemnou strukturu a umístěn do Petriho misky o průměru 14 cm. Zrna pšenice jsou mezitím vařena asi 20 minut ve vodní suspenzi 50 ml/l fungicidu Rovral (ú.l. iprodione). Dvacet pět takto ošetřených zrn je pak uloženo do jedné misky na povrch půdy, který je ovlhčen. Po uzavření víkem je vzorek inkubován po čtyři dny v temnu při laboratorní teplotě.

Zrna jsou pak oprána v destilované vodě a umístěna opět do Petriho misek, ale tentokrát na filtrační papír, který byl ovlhčen vodní suspenzí 50 ml/l fungicidu Rovral. Takto připravené misky jsou umístěny na 5 dnů pod UV světlo, které podpoří produkci konidíí fuzárií, prorůstajících jako mycelium z obilek, do kterých vniklo v první části inkubace na půdním vzorku.

Izolace *Fusarium spp.* ze zrna

100 zrn jako jedno opakování bylo nejprve povrchově sterilováno roztokem chlornanu sodného (přípravek Savo). Po dvojnásobném promytí v destilované vodě byla zrna osušena. Poté byla vyložena na pás filtračního papíru, který byl 50 cm dlouhý a 13 cm široký. Tento pás papíru byl podlo-

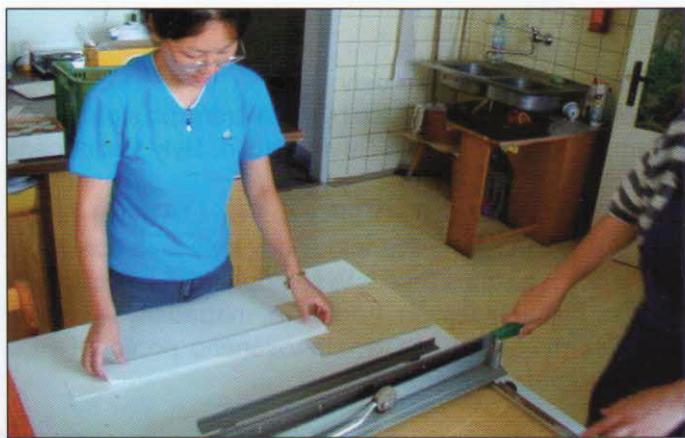
žen pásem PVC fólie. Roztok škrobnatého lepidla byl rozteřen do asi 3 cm široké vrstvy na pás papíru tak, aby bylo možno zrna fixovat přibližně ve vzdálenosti 1,5 cm od spodního okraje pásu. Zrna byla umístěna jednotně klíčkem k dolní hraně pásu. Toto je významné pro zajistění jednotného směru růstu klíčních rostlin po stočení pásu papíru a jeho umístění do vertikální polohy. Nakonec byla zrna překryta 5 cm širokým pásem filtračního papíru a ovlhčena vodou, aby došlo k jejich zajistění proti vypadnutí.

Celý pás papíru a podložní fólie byl smotán do ruličky a umístěn do plastového kontejneru, naplněného suspenzí fungicidu Rovral (50 ml/l) tak, aby vzlínající suspenze zajistila dostatečnou vlhkost filtračního papíru. Vzorky byly ponechány po dobu 7 dnů, po které bylo možno zjistit počet fuzárii napadených zrn a počet zrn neklíčících.

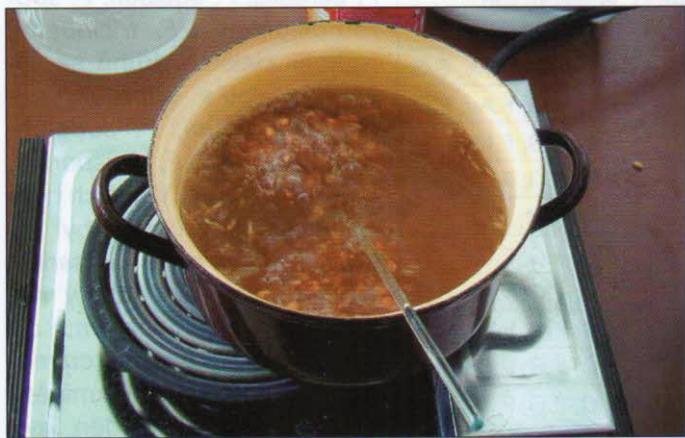
Pro mikroskopická stanovení druhů fytopatogenních hub rodu *Fusarium* byl použit mikroskop OLYMPUS BX 40 při 200 násobném zvětšení.



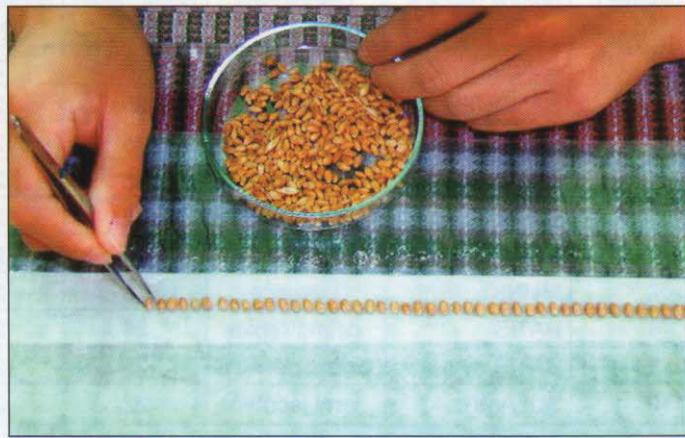
drcení vzorků půdy



řezání pásů filtročního papíru



vaření zrna v suspenzi fungicidu Rovral



vyložení 100 obilek na pás filtročního papíru



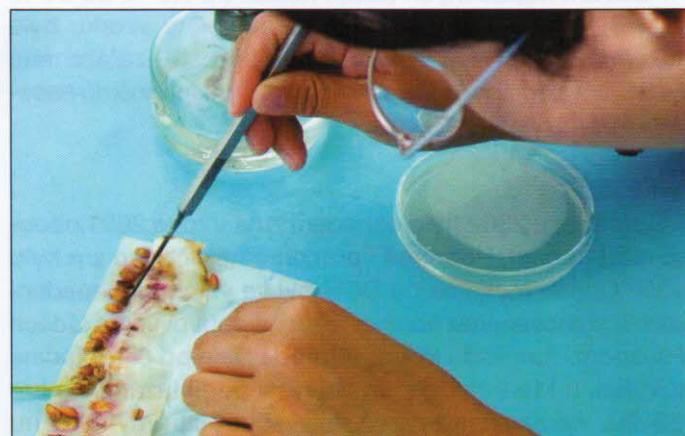
vyložení vařených zrn na povrch vzorů půdy



vzorek zrna po 7 dnech inkubace ve vertikální poloze



kolonie fuzárií, které prorostly do zrn z půdy



hodnocení napadených zrn plísňemi rodu *Fusarium*

Analýzy 2001

Charakteristika vzorků osiv

Vzorky zrna ozimé pšenice byly odebrány po sklizni 2001 v zemědělském podniku Rovina Hulín. Byly hodnoceny následující odrůdy ozimé pšenice:

APACHE, COMPLET, DRIFTER, EBI, LUDWIG, NELA, NIAGARA, SULAMIT. Předplodinami byly kukuřice, mák, jarní ječmen a ozimá řepka. Výše popsaným laboratorním testem byl analyzován podíl zrn, napadených fuzárií a obsah mykotoxinu DON, stanoveného pomocí HPLC chromatografické metody.

Tab. 2: Izolace *Fusarium spp.* z půdních vzorků, Rovina Hulin, 2002

vzorek č.	odrůda pšenice	předplodina	počet infekcí z 25 zm	počet infekcí z 25 zrn	<i>Fusarium spp.</i>
1	SULAMIT	mák	25	25	F.C; F.M; F.Av; F.G
2	BANQUET	mák	25	25	F.C; F.G; F.Av; F.O
3	APACHE	kukuřice	25	25	F.C; F.G; F.M
4	CLEVER	ozimá řepka	25	25	F.C; F.G; F.O; F.M
5	COMPLET	mák	25	24	F.C; F.M; F.G
6	NELA	kukuřice	24	25	F.C; F.G; F.O
7	MUNK	kukuřice	18	25	F.C; F.G; F.Av; F.M
8	BATIS	ozimá řepka	24	22	F.C; F.G; F.M
9	BATIS	ozimá pšenice	25	21	F.C; F.G; F.O; F.M
10	SULAMIT	jarní ječmen	22	25	F.C; F.G; F.M

Zkratky: FC – *F. culmorum*, FAv – *F. avenaceum*, FG – *F. graminearum*, FM – *F. moniliforme*, FO – *F. oxysporum*

Výsledky

rok 2002

Téměř všechna zrna, která jsme vyložili na povrch vzorků půdy v Petriho miskách, byla infikována fuzárií. Toto zjištění bylo pro všechny sledované vzorky a nebyly nalezeny rozdíly mezi jednotlivými předplodinami (Tab. 2). Rovněž nebyly nalezeny rozdíly v kontaminaci půdy fuzárií z pohledu různých odrůd pšenice, které byly na pozemcích pěstovány. Nejčastěji se vyskytujícími druhy fuzárií byly *Fusarium graminearum* a *Fusarium culmorum*, které byly přítomny ve všech vzorcích (graf 1).

Podíl zrn napadených fuzárií kolísal od 3,5 % do 35 % (tab. 3). Předplodinou nejvíce napadeného vzorku byla kukuřice. I další dva vzorky zrna z porostu, zařazeného v osevním sledu po kukuřici, vykazovaly nadprůměrné napadení fuzárií.

rok 2001

Oproti roku 2002 bylo napadení zrna v roce 2001 obecně nižší (tab. 4). Podobně i procento neklíčivých zrn bylo nižší. Obsah mykotoxinu DON byl ve vztahu k napadení fuzárií, stanovenému pomocí testu na papírových roládách v suspenzi fungicidu Rovral. Odrůda Nela po předplodině kukuřici, u které byl zjištěn nejvyšší podíl fuzárných zrn (23 %), vykazovala rovněž nejvyšší obsah mykotoxinu v zrně.

Diskuze

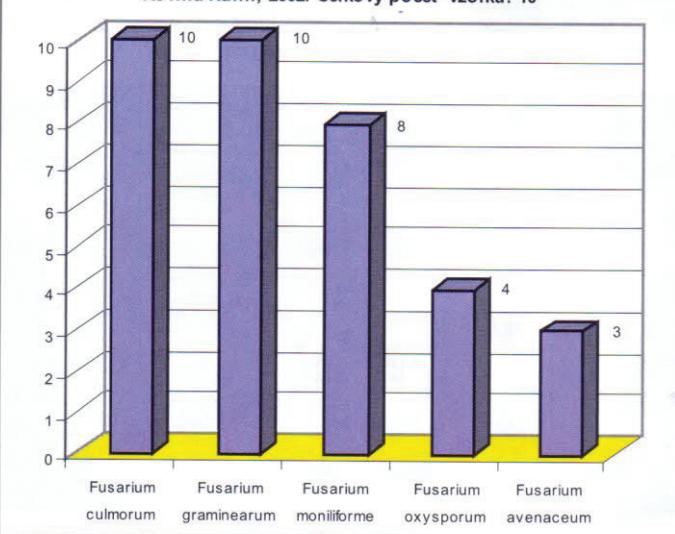
Při izolaci fytopatogenních hub rodu *Fusarium* z infikovaného zrna jsme nejistili průkazné rozdíly mezi jednotlivými vzorky. Při dané intenzitě napadení byl druh *Fusarium graminearum* přítomen ve většině vzorků. Podobně dominující výskyt byl i při provedení izolací druhů fuzárií z půdy. To svědčí o tom, že na sledovaných pozemcích proběhla silná infekce tímto druhem fuzárií, která je pravděpodobně úzce spjata s relativně vyšším podílem kukuřice v osevním sledu.

Druhy fuzárií, které dominují při napadeních obilnin v Evropě, jsou *F. graminearum*, *F. culmorum* a *F. avenaceum* (Logrieco and Bottalico, 2001). Mezi méně časté druhy patří například *F. poae*, *F. cerealis*, *F. equiseti*, *F. sporotrichioides* a *F. tricinctum*.

Několik dalších druhů se vyskytuje spíše sporadicky – *F. acuminatum*, *F. subglutinans*, *F. solani*, *F. oxysporum*, a *F. semitectum*. V našich hodnocených vzorků zrna byl výskyt *Fusarium poae* a *Fusarium moniliforme* méně častý než *Fusarium graminearum*, ale vyšší oproti *Fusarium culmorum*. Tento posledně zmíněný druh fuzárií je uváděn jako obecně dominantní v severní (chladičí) části Evropy. Malý být ovlivněn teplejším počasím u nás v průběhu posledních několika let.

Při hodnocení vzorků půdy jsme zjistili přibližně stejný a významný podíl obou druhů – *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum*. Malý výskyt *Fusarium culmorum* v zrně může být vysvětlován například rozdílnými optimálními podmínkami pro infekci klasů jednotlivými druhy fuzárií. Infekce klasů druhem *Fusarium graminea-*

Obr. 1: Druhy rodu *Fusarium spp.* Izolované z půdních vzorků, Rovina Hulin, 2002. Celkový počet vzorků: 10



Tab. 4: Infekce fuzárií, obsah mykotoxinu DON (mg/kg) a procento neklíčivých zrn v roce 2001

vzorek	odrůda	předplodina	DON (mg/kg)	fuzárijní zrna	neklíčivá zrna
				%	%
1	EBI	kukuřice	1,8	15,0	11,0
2	APACHE	ječmen jarní	0,3	9,3	3,3
3	DRIFTER	mák	0	0,0	5,0
4	NIAGARA	ozimá řepka	0	15,3	13,7
5	LUDWIG	mák	0,4	2,7	6,7
6	COMPLET	ozimá řepka	0,3	7,0	7,0
7	NELA	kukuřice	2,1	24,0	19,3
8	SULAMIT	mák	0,5	3,0	8,3

rum (*Giberella zeae*) může probíhat konídiemi (nepohlavní) i askospórami (pohlavní stádium vývoje houby) (Bergstrom, 1993), kdežto u druhu *Fusarium culmorum* je znám pouze přenos konídiemi. Konídie se přenášejí na rostliny pomocí dešťových kapek, ale askospóry jsou větrem přenosné na velké vzdálenosti a bez potřeby dešťových srážek (Sutton, 1982). *Fusarium graminearum* má tedy více možností infikovat klasy i při relativně suchém počasí a nedostatku srážek.

V roce 2002 jsme zjistili vyšší procento neklíčivých zrn, než v roce 2001. Klíčivost mohla být výrazně snížena deštivým počasím v době dozrávání, které nastalo právě v létě roku 2002.

Ve své práci jsme využili experimentálně tzv. metodu papírových rolád k určení procenta fuzárií napadených zrn. Tato metoda se ukázala být rychlým postupem, který podá informaci o napadení sledovaného vzorku. Lze ji doporučit například pro první výběr vzorků, které při zjištěném vyšším výskytu napadení fuzárií mohou být dále analyzovány na obsah mykotoxinů.

Tzv. metoda návnady byla vyvinuta za účelem izolací hub rodu *Fusarium* z půdy za současného potlačení ostatních fytopatogenních hub. Naše výsledky potvrdily vysokou efektivitu této metody, s jejíž pomocí jsme schopni v krátkém čase podat informaci o výskytu druhů fuzáří v různých půdních vzorcích.

Tab. 3: Procento infekce zrna pšenice *Fusarium* spp. a podíl neklíčivých zrn u vzorků zrna v roce 2002

č. vzorku	odrůda	předplodina	<i>Fusarium</i> spp. %	neklíčivých %
1	SULAMIT	mák	12,5	44
2	BANQUET	mák	5,5	15,5
3	APACHE	kukuřice	13	6
4	CLEVER	ozimá řepka	9,5	4,5
5	COMPLET	mák	18,5	8
6	NELA	kukuřice	35	3
7	MUNK	kukuřice	18	8
8	BATIS	ozimá řepka	20	13
9	BATIS	ozimá pšenice	13	22
10	SULAMIT	jarní ječmen	3,5	65

Literární přehled:

AMELUNG, D. (1996): Experiences with the isolation of plant pathogenic fungi. In: Proc. Of the 4th Int. Sym. Of the European Foundation for Plant Pathology: Diagnosis and identification of plant pathogens, Bonn, Germany, 09–12. 09. 1996, 35–36.

BERGSTROM, G. C. (1993): Scab (Fusarium Head Blight). In: Seed-borne diseases and seed

health testing of wheat, Copenhagen, 1993, 83–93.

LOGRIECO, A., BOTTALICO, A. (2001): Distribution of toxicogenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight of wheat in Europe. In: Proc. of Int. Conf.: Sustainable systems of cereal crop protection against fungal diseases as the way of reduction of toxin occurrence in the food webs, Kromeriz, 02.–06. 07. 2001, 83–89.

SUTTON, J.C. (1982): Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. Canadian Journal of Plant Pathology, 4: 195–209.

Poděkování: Práce vznikla v rámci řešení mezinárodního projektu spolupráce ČR a Čínské lidové republiky, program MŠMT KONTAKT, projekt č. ME 348.

