

Model predikce obsahu deoxynivalenolu v zrnu pšenice na základě meteorologických údajů a předplodiny

(Forecasts model for deoxynivalenol content in wheat grain based on meteorological data and previous crop)

¹⁾Váňová, M., ²⁾Klem, K.

¹⁾Agrotest fyto, s.r.o., Kroměříž, ²⁾Centrum výzkumu globální změny Akademie věd České Republiky, v. v. i., Brno

Souhrn: Deoxynivalenol (DON) je nejčastějším fuzáriovým toxinem ve vzorcích pšenice v ČR, a proto predikce jeho výskytu může být vhodným nástrojem prevence jeho vstupu do potravního řetězce. Údaje o obsahu DON v pšeničném zrnu, meteorologických podmínkách během vegetační doby a metodách zpracování půdy ze dvou polních pokusů byly využity k vytvoření modelu na bázi neuronové sítě pro predikci obsahu DON. Nejlepší neuronová síť je založena na pěti vstupních proměnných: předplodina, průměrná teplota v dubnu, suma srážek v dubnu, průměrná teplota 5 dnů před kvetením, suma srážek 5 dnů před kvetením. Nejdůležitějšími vstupními parametry jsou předplodina a suma srážek 5 dnů před kvetením. Meteorologické podmínky v dubnu, které jsou důležité pro tvorbu inokula na rostlinných zbytcích, jsou pro model také důležité. Meteorologické podmínky v květnu a 5 dnů po kvetení nejsou pro obsah DON v zrnu příliš významné. Bylo zjištěno, že zpracování půdy má na funkci modelu také malý vliv. Korelace mezi pozorovanými a predikovanými daty s využitím modelu neuronové sítě byla $R^2 = 0,87$.

Abstract: Deoxynivalenol (DON) is the most common mycotoxin in samples of wheat in the Czech Republic, and therefore the prediction of its presence may be an appropriate tool of preventing its entry into the food chain. Data on the content of DON in wheat grain, weather conditions during the growing season and methods of tillage of two field trials were used to create the model based on neural network to predict DON content. The best neural network is based on five input variables: the previous crop, the average temperature in April, the amount of precipitation in April, average temperature 5 days before flowering, the amount of precipitation 5 days before flowering. The most important input parameters are preceding crop and amount of precipitation 5 days before flowering. Meteorological conditions in April, which are important for the formation of the inoculum, are also important for the model. Weather conditions in May and 5 days after flowering are not for DON content in grain so important. It was found that the tillage has on function of model a small influence. The correlation between observed and predicted data using neural network model was $R^2 = 0,87$.

MATERIÁL A METODY

Polní pokusy

Vzorky zrna z polních pokusů s ozimou pšenicí založených s cílem stanovit vliv zpracování půdy v kombinaci s vlivem předplodiny na napadení fuzáriózou klasu byly analyzovány na obsah DON. Před setím byly použity tři systémy zpracování půdy: orba do hloubky 22 cm, mělké zpracování diskem (10 cm) a přímé setí. Pokusy byly zasety po dvou předplodinách: vojtěšce jako nehostitelské plodině a kukuřici jako hostitelské plodině. U obou pokusů byla doba setí v první dekádě října. Parcely měly plochu 20 m² ve čtyřech opakováních. Každá varianta zpracování půdy a předplodiny byla oddělena 3m pásem, aby byly parcely chráněny před sousedním zdrojem primární infekce. Průměrné denní meteorologické údaje (teplota, srážky, relativní vlhkost) byly zaznamenávány automatickou meteorologickou stanicí a analyzovány odděleně pro duben, květen a 5denní období před počátkem kvetení a 5 dnů po začátku kvetení. Meteorologické údaje byly vztaheny k obsahu DON v zrnu pro každý parametr zvlášť. K analýze mnohonásobného vlivu několika meteorologických parametrů na obsah DON byla umělá neuronová síť trénována na souboru dat pomocí postupu pro neuronovou síť v programu Statistica 7. Nejlepší neuronová síť byla vybrána na základě minimalizované sumy kvadratických odchylek mezi predikovanými a pozorovanými daty.

Analytická metoda stanovení obsahu DON

Všechny vzorky zrna byly analyzovány na hodnotu DON pomocí metody plynové chromatografie (GC/ECD) (Radová et al. 1998). Homogenizovaný pomletý vzorek pšenice (10 g) byl extrahován 100 ml směsí acetonitril: voda (84:16, v/v) třepáním po dobu jedné

hodiny, purifikace extraktu byla provedena kolonami MycoSep 225, DON byl stanoven pomocí GC/ECD po derivatizaci trifluoroacetanhydridem (TFAA). Limit detekce byl 5 µg/kg, limit kvantifikace 15 µg/kg a průměrná regenerace ($n=5$, hodnota DON v klasových vzorcích byla 500 µg/kg) činila $86,3\% \pm 4,9\%$.

Zajištění kvality analýzy DON

Standard mykotoxinu byl zakoupen od firmy Sigma-Aldrich (Německo). Připravený zásobní roztok DON byl skladován při teplotě -18 °C. Pracovní standardní roztok byl připraven před analýzou a jeho koncentrace byla ověřena měřením UV absorbance na spektrofotometru.

Pro zajištění kvality analýzy mykotoxinu byly použity tyto materiály: certifikované referenční materiály (CRM, certificate reference materials), DON v pšeničné mouce ($< 0,05$ µg/kg, BCR 396, Belgie) a DON v přirozeně kontaminované pšenici ($0,7 \pm 0,1$ µg/kg, R-Biopharm Rhone, VB).

Tato analytická metoda byla akreditována a každý rok úspěšně prošla hodnocením Food Analysis Performance Assessment Scheme (FAPAS) organizovaným Central Science Laboratory (York, VB).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Rozdíly mezi metodami zpracování půdy a předplodinami se zvyšovaly s celkovou úrovní napadení. Zatímco nejvyšší obsah DON byl zjištěn při přímém setí a nejnižší obsah DON na variantě s orbou po kukuřici. S využitím kukuřice jako předplodiny se obsah DON zvýšil až 7krát ve srovnání s vojtěškou. U pšenice po vojtěšce byly rozdíly mezi metodami zpracování půdy malé a nejvyšší hladina DON byla zjištěna při mělkém zpracování.

Obsah DON byl dán do vztahu s meteorologickými údaji pro měsíční data před metáním a pro 5denní data před a po začátku kvetení. Nejvyšší kladné korelační koeficienty byly zjištěny u sumy srážek v dubnu, průměrné teploty v dubnu a sumy srážek 5 dnů před kvetením. Průkazná negativní korelace byla zjištěna u průměrné teploty v květnu a průměrné relativní vlhkosti 5 dnů před kvetením.

S využitím dat z tohoto pokusu jsme trénovali neuronové sítě pro predikci obsahu DON na základě meteorologických údajů a předplodiny. Nejlepší neuronová síť s architekturou ZRNS 5:5-12-2-1:1 pracuje s 5 vstupními proměnnými: proměnná předplodina a průměrná teplota v dubnu, suma srážek v dubnu, průměrná teplota 5 dnů před kvetením, suma srážek 5 dnů před kvetením. Jednotlivé vstupní proměnné přispívají predikci v nejlepší neuronové síti. Jedním z nejdůležitějších vstupních parametrů je předplodina a suma srážek 5 dnů před kvetením. Vliv sumy srážek 5 dnů před kvetením začíná od limitu 15 mm. Dalšími dvěma důležitými parametry rozhodujícími pro tvorbu perithecií je průměrná teplota a suma srážek v dubnu. Obecně se obsah DON zvyšuje s teplotou a nárůstem srážek. Produkce DON je potlačena při průměrných teplotách v dubnu pod 9.5 °C s nepřetržitým nárůstem obsahu DON až do průměrné teploty okolo 11 °C. Reakce obsahu DON na průměrné dubnové teploty ukazuje sigmoidní vztah. Vliv srážek v dubnu na obsah DON má exponenciální průběh.

Obsah DON v zrnu pšenice byl ovlivněn hlavně ročníkem a předplodinou. To je v souladu s Schaafsma et al. (2005), kteří uvedli, že environmentální vlivy tvořily 48 % variability obsahu DON v pšeničném zrnu, potom následovala odrůda (27 %) a předplodina (14-28 %). Vliv zpracování půdy byl ve většině pokusných let velmi malý. Tyto výsledky ukazují, že zapravení rostlinných zbytků hraje významnou roli, jen pokud je úroveň infekce obecně vysoká. Koch et al. (2006) došli na základě svých faremních provozních pokusů k závěru, že roční meteorologické podmínky ovlivňují napadení fuzáriem a obsah DON do stejné míry jako předplodina a odrůdová náchylnost, a ve srovnání s těmito faktory je použitý systém zpracování půdy méně důležitý. Dill-Macky a Jones (2000) našli pouze malé rozdíly v obsahu DON mezi parcelami s orbou s obracením, orbou bez obracení a přímým setím. Pokud jsou podmínky pro tvorbu perithecií a askospor méně příznivé, jednotky infekce by se mohly tvořit na starších rostlinných zbytcích a hlubší zpracování půdy by bylo v tomto procesu vhodnější. V tomto případě je vliv předplodiny malý. Mělké zapravení rostlinných zbytků v suchých letech vytváří lepší vláhové podmínky pro zrání perithecií a uvolňování askospor.

I když se zapravené zbytky rozložily podstatně rychleji než zbytky na povrchu půdy (Pereyra et al. 2004), vykopání rostlinných zbytků z hlubší půdní vrstvy může obnovit tvorbu perithecií na rostlinných zbytcích, která je mnohem nižší než v prvním roce, ale může být důvodem překrývání rozdílů mezi předplodinami. Khonga a Sutton (1988) zjistili, že stébla kukuřice a klásky pšenice, které zůstaly na povrchu půdy, byly schopny tvořit perithecia během druhého roku.

Korelační analýza ukazuje, že v poměrně suchých podmínkách kontinentálního klimatu v České republice je jedním z velmi důležitých příčin napadení fuzárií a výsledné produkce DON vývoj infekčního potenciálu na zbytcích předplodiny brzy na jaře (duben). Teplé a vlhké časně jaro podporuje zvyšování napadení a tvorbu DON v zrnu ozimé pšenice. Tyto podmínky na jaře jsou příznivé pro vývoj a dozrávání perithecií na rostlinných zbytcích včas, aby produkovaly askospory současně s kvetením obilnin

(Suty a Mauler-Machnik 1996). Z některých studií (např. Fernando et al. 1997) vyplývá, že napadení fuzárií je způsobeno hlavně primární infekcí a sekundární šíření má menší význam. Proto by podmínky příznivé pro vývoj perithecií (relativní vlhkost a teplota v dubnu) mohly mít větší vliv než meteorologické podmínky okolo kvetení.

Pro počáteční uvolňování askospor je potřeba vysoké vlhkosti, ačkoliv pro jejich prudké rozstříknutí z perithecií do vzduchu je možná potřeba suché období (Parry et al. 1995). Protože se perithecia *G. zeae* vyvíjejí na nadzemních zbytcích při teplotách 15-25 °C, ale ne pod 15 °C (Gilbert a Fernando 2004), je vliv dubnové teploty docela velký. Andries et al. (2000) zjistili, že tvorba perithecia je omezena průměrnou denní teplotou pod 9 °C. Duben je v České republice jedním z měsíců s nejvíce variabilním počasím. Období s teplotami pod 10 °C jsou velmi častá, a to zpožďuje tvorbu perithecií na zbytcích plodin mající za následek pozdní uvolnění askospor (po kvetení) a nižší napadení fuzárií.

U korelačních koeficientů mezi relativní vlhkostí a sumou srážek 5 dnů před kvetením existuje zajímavý paradox. U prvního parametru je korelace kladná a u druhého záporná. To lze snadno vysvětlit optimálními podmínkami pro uvolňování askospor z perithecií, tj. střídavě zvlhčení a vysušení. Paulitz (1996) uvedl, že vysušení perithecií během dne a následným prudkým zvýšením relativní vlhkosti může stimulovat uvolnění askospor. Nejdůležitějším ukazatelem počasí, který přímo ovlivňuje infekční proces, byla suma srážek 5 dnů před kvetením.

Vliv teploty a srážek po kvetení nebyl průkazný. Podle Baie a Shanera (1991), napadení fuzárií je podporováno prodlouženou dobou (48 až 72 h) při > 90% relativní vlhkosti s teplotami 15 až 30 °C. Když je vlhkost nebo případy s vysokou vlhkostí přerušovaná, infekce se stále ještě může vyskytnout, ale její účinnost je snížena. Ačkoliv teplota by mohla mít silný vliv na infekční proces (Brennan et al. 2005), z praktického hlediska je vlhkost v českých podmínkách častěji limitujícím faktorem. Srážky krátce před kvetením mají kombinovaný vliv na zralost a uvolnění askospor, rozstříknutí makrokonidií a podporu infekce zvlhčením klasů. Paulitz (1996) zjistil, že nejvyšší počet spor *Fusarium* byl zachycen z parcel pšenice 2 až 4 dny po dešti. Rossi et al. (2002) nezjistili žádné nebo velmi málo konidií před deštěm, ale jejich počet se postupně zvyšoval během deště. S následnými vlhkými podmínkami pokračovala tvorba konidií po dobu několika hodin po dešti a v těchto podmínkách obvykle dosáhly svého vrcholu. Umělé neuronové sítě se v poslední době stávají populárními ve fytopatologii, většinou v predikčních modelech (Yang et al. 1995, De Wolf and Francl 1997, Chakraborty et al. 2004). Vyvinutý model na bázi neuronové sítě je založen na vstupní proměnné (předplodina) a proměnných (průměrná teplota v dubnu, suma srážek v dubnu, průměrná teplota 5 dnů před kvetením a suma srážek 5 dnů před kvetením). Hlavní výhodou modelu je, že spojuje vliv předplodiny, povětrnostních podmínek na tvorbu inokula a povětrnostních podmínek na uvolnění askospor a proces infekce.

Model pro predikci epidemie fuzariózy klasu založený na hodinových údajích o počasí byl vyvinut De Wolfem et al. (2004). Údaje použité v modelu zahrnují relativní vlhkost, hodiny, kdy se teploty vzduchu pohybují od 9 do 30 °C, hodiny srážek přesahujících 0.3 mm a vztah vysoké relativní vlhkosti a příznivých teplot vzduchu zaznamenaných během 7denního intervalu před kvetením. Odhaduje se, že model předpovídá epidemii fuzariózy a absenci epidemie přibližně na 80 % doby. S použitím stupňovité logistické regresní analýzy určili De Wolf et al. (2000) tři proměnné užitečné pro predikci epidemie fuzariózy. Dvě z těchto

proměnných byly souhrny prostředí 7 dnů před kvetením plodiny a zahrnovaly délku trvání srážek a délku trvání teploty v rozpětí od 15 do 30 °C. Třetí proměnná kombinovala teplotu a relativní vlhkost 10 dnů po začátku kvetení.

Na základě našich experimentálních výsledků a literárních údajů lze shrnout, že proměnné, představující prostředí před kvetením, mohou poskytnout modely s informacemi o potenciálně limitujících faktorech pro produkci inokula současně s přímým vlivem na infekci klasu. Sestavení predikčních modelů na základě údajů o počasí před kvetením má také praktické důsledky pro ochranu rostlin, protože účinnost fungicidního ošetření závisí na správné době aplikace, která je limitována fází kvetení.

Seznam použité literatury je dostupný na požádání u autorů.

Kontaktní adresa: vanova@vukrom.cz

Poděkování

Tato publikace vznikla v rámci projektů QJ1210008 a QI111B044 a s využitím institucionální podpory na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace RO0211.

