

## HODNOCENÍ NAPADENÍ GLOEOSPORIOVOU HNILOBOU U ODRŮD JABLEK IDARED A GOLDEN DELICIOUS REINDERS POMOCÍ NIR SPEKTROSKOPIE

J. Růžicková, T. Lužová, A. Němcová, P. Mýlová, K. Šustová

Došlo: 8. června 2006

### Abstract

RŮŽICKOVÁ, J., LUŽOVÁ, T., NĚMCOVÁ, A., MÝLOVÁ, P., ŠUSTOVÁ, K.: *Evaluation of Gloeosporium fungal decay attack in Idared and Golden Delicious Reinders cultivars using NIR spectroscopy*. Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun., 2006, LIV, No. 4, pp. 53–60

The aim of our work was to observe the possibility of application of near-infrared spectroscopy for monitoring of internal changes in stored apples infested by *Gloeosporium album* (Osterw) [*Pezicula malicorticis* (H. S. Jackson)]. The cultivars Idared and Golden Delicious Reinders were used in this work. Two groups of infected and non-infected apples of both cultivars each containing twenty pieces and stored in cold-storage room ( $\pm 3$  °C) were observed for seven weeks. The apples were measured in reflectance mode with resolution 8 and number of scans 100. Each fruit was analysed 4 times and the average spectrum was used for evaluation. The discriminate analysis was applied to separate into clusters. This method was used for distinguishing infected and non-infected apples of both cultivars during the first week from the application of *Gloeosporium album*. According to spectra, the infection was more evident in Golden Delicious Reinders which was also confirmed by a stronger visual exposure. Although Idared displays weaker symptoms of the attack, NIR spectroscopy was still able to detect infected fruits.

NIR spectroscopy, apples Idared, apples Golden Delicious Reinders, *Gloeosporium*

NIR spektroskopie je metoda využívající k měření oblast infračerveného záření. Jedná se techniku, kterou lze rychle a nedestruktivně zjišťovat chemické a fyzikální vlastnosti zemědělských, zahradnických a potravinářských surovin a produktů.

Blízká infračervená spektroskopie je hojně využívána v oblasti ovocnářství, kde se aplikuje ke zjišťování kvalitativních znaků (obsah sušiny, obsah cukru, kyseliny). Dále se uplatňuje NIR spektroskopie při posuzování fyzikálních vlastností plodů (pevnost dužiny). Tato metoda se používá k analýzám peckovitého ovoce jako jsou broskve, nektarinky, švestky (GOLIC & WALCH, 2006; SLAUGHTER et al., 2003).

Velké množství prací se věnuje zjišťování chemických i fyzikálních parametrů u jablek. LAMMERTYN et al. (2001) se zabýval použitím NIR spektroskopie pro nedestruktivní zjištění hodnoty pH, obsahu sušiny

a pevnosti (tvrdosti) pro odrůdu Jonagold. MOONS et al. (2000) vykazuje ve své práci dobré výsledky pro stanovování obsahu cukru, titrační kyselosti, obsahu sušiny, pH a pevnosti u belgických odrůd jablek měřených v režimu reflektance.

NIR spektroskopie se také uplatňuje na detekci jakostních defektů a onemocnění projevující se během skladování. Hlavní povrchová vada jablek se projevuje převážně odlišností barvy slupky. Příčiny hnědnutí jsou hlavně způsobené mechanickým poškozením během sklizně, transportem a ruční manipulací. Může způsobit zařazení plodů do nižší jakostní třídy a způsobit tak kvalitativní a kvantitativní ztráty. XING et al. (2003) se zabývali odlišením otlučených míst na povrchu jablek odrůdy Golden Delicious využitím NIR spektroskopie v režimu reflektance v spektrálním rozsahu 400–1700 nm. K vyhodnocení spekter

použili kanonickou (canonical) diskriminační analýzu (CDA). Pro detekci otlučených míst na plodech odrůd Red Delicious a Golden Delicious aplikoval LU (2003) metodu NIR hyperspektrální zobrazování (NIR hyperspectral imaging) v rozsahu 900–1700 nm.

Barevné změny povrchu slupky jablek během skladování mají svůj původ i ve fyziologických změnách, jenž jsou způsobené např. nahromaděním aromatických produktů metabolismu, tzv. spála slupky, kterou trpí hlavně odrůdy Idared nebo Ontario (<http://botany.upol.cz/prezentace/petrzel/fytopato.doc>). První zmínky o použití spektrální techniky na určení vnitřní degradace jablek jsou v práci FRANCISE (1965), který měřil v režimu transmitance.

Nedestruktivně pomocí NIR hyperspektrálního zobrazování (NIKOLAŘ et al., 2006) se rovněž zjišťuje fyziologická hořká skvrnitost (bitter pit), což je porucha zapříčiněná nedostatkem vápníku. Projevuje se jako malé vkleslé skvrny na povrchu jablka podobné miniaturním otlakům. Slupka v místě skvrn je šedá, hnědá nebo černá a dužnina je suchá, hnědá a houbovitě konzistence. Pomocí této techniky lze identifikovat fyziologickou hořkou skvrnitost, aniž by se vizuálně projevila, avšak není ji možné odlišit od zkorkovatěných míst. Citlivými odrůdami na výskyt této poruchy jsou Jonagold a Golden Delicious.

Dalším problémem u skladovaného ovoce je možný rozvoj infekčních chorob a různých typů hnilob. Jednou z nejčastěji se vyskytujících vad je hořká hniloba vyvolaná houbou *Gloeosporium album* (Osterw) [*Pezicula malicorticis* (H. S. Jackson)]. Vyvolává ostře ohraničené okrouhlé hnědé skvrny o průměru 0,5–3 cm, jejichž povrch se miskovitě prohýbá. Typická je hořká chuť dužniny, infekce plodů nejčastěji v létě konidiemi přes lenticely a poranění. Malé nároky těchto hub na teplotu jim umožňují rychlý růst i při nízkých skladovacích teplotách, takže napadené plody se rychle kazí. S postupujícím zráním uskladněného ovoce stoupá i jeho náchylnost k této chorobě. Nejvíce napadená bývá odrůda Golden Delicious.

Úkolem této práce bylo zjistit možnost použití NIR spektroskopie při sledování rozvoje houbové infekce způsobené patogenem *Gloeosporium album* (Osterw) u jablek odrůd Idared a Golden Delicious Reinders (GDR). Práce je zaměřena na rozpoznání infekce ještě před jejím vizuálním projevením. Zavedení technik zjišťujících možnost výskytu otlučenin, fyziologických chorob či hnilob u ovoce ještě před jejich vizuálním projevením by mohlo vést ke zvýšení jakosti prodáváných produktů a tím i k menším ekonomickým ztrátám a k vyšší spokojenosti zákazníka.

#### MATERIÁL A METODY

K měření byla použita jablka odrůd Idared a Golden Delicious Reinders. Od každé odrůdy jsme měli k dis-

pozici 40 plodů, které jsme rozdělili na dvě skupiny. První skupina (20 plodů) byla ponechána v původním stavu, kdežto druhá byla infikována myceliem houby *Gloeosporium album* (Osterw).

Aplikace gloeosporia byla provedena mechanickým řezem sterilním skalpelem, kdy byla na dvou protilehlých stranách plodu naříznuta slupka, pod kterou bylo vloženo přibližně 5 mm<sup>2</sup> mycelia (BRYK, 1997). Jablka byla uskladněna v chladárně při teplotě  $\pm 3$  °C. Sledování rozvoje gloeosporia probíhalo po dobu sedmi týdnů a to v cca týdenních intervalech, přičemž první měření se provedlo asi pět dní po aplikaci mycelia.

Plody byly měřeny na přístroji FT NIR Antaris firmy ThermoNicolet ve spektrálním rozsahu 4000–10000 cm<sup>-1</sup> v režimu reflektance (odrazu) s rozlišením 8 a počtem scanů 100. Každý plod byl změřen na čtyřech místech, vždy cca 1,5 cm od místa aplikace gloeosporia po obou stranách. Z těchto měření bylo vyhodnocováno průměrné spektrum.

K vyhodnocení spekter se použila metoda diskriminační analýzy. Jedná se o spektrální klasifikační techniku založenou na rozlišení spekter dle „kvality“ tak, že určí třídu, která je nejpodobnější posuzovanému spektru vzorku. Třídy (x-tý týden po zanesení infekce do plodu) jsou popsány standardy (průměrná spektra čtyř plodů ve skupině), jež tvoří shluk (cluster) kolem těžiště třídy. Výsledkem tedy může být jméno třídy nebo také tzv. Mahalanobisova vzdálenost, která popisuje vzdálenost hodnoceného spektra od těžiště třídy. Počet tříd odpovídá počtu měření. Přítomnost diskriminačního kříže ukazuje na velkou odlišnost porovnávaných vzorků.

Pro každou z odrůd se vyhotovila vlastní diskriminační analýza a posuzoval se rozvoj infekce zvlášť pro každou z nich. Do modelů jsme zařadili všechna měření, přičemž každé je označeno jako jedna třída (tvoří jeden cluster). Celkový počet tříd je tedy sedm a porovnávaly se jednotlivě mezi sebou.

#### VÝSLEDKY A DISKUSE

K vyhodnocování se použila spektra jablek v celém rozsahu měření (4119,21–9881,46 cm<sup>-1</sup>); nebyla vybrána žádná část regionu, která by konkretizovala průběh změn (chemické, rozvoj infekce) během sledování. Ukázka spekter odrůd Idared a Golden Delicious Reinders při prvním měření je na obrázku 1.

Jak je patrné, spektra odrůd jsou od sebe odlišná, avšak při srovnání plodů nepoškozených a infikovaných je rozdíl minimální. Na konci sledování je zaznamenán viditelnější rozdíl mezi spektry odrůdy Golden Delicious Reinders než u Idaredu (Obr. 2).

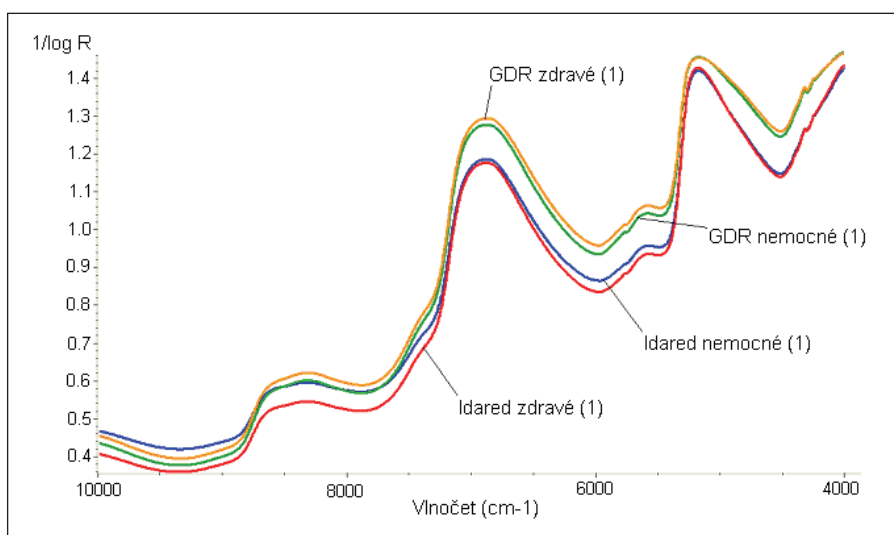
Záměrem pokusu bylo, aby došlo k rozdělení nepoškozených plodů a plodů nakažených, proto k rozlišení jablek zdravých a infikovaných byla použita metoda diskriminační analýzy. Dle výsledků analýz (Obr. 3

a 4) lze usuzovat, že rozdíl mezi clustery pro zdravé a nemocné plody je velmi zřetelný u obou odrůd už na počátku sledování a tento trend je zachován po celou dobu pokusu (Obr. 5 a 6). Významným ukazatelem je přítomnost diskriminačního kříže, který úplně odděluje clustery a nedochází k prolínání jednotlivých spekter.

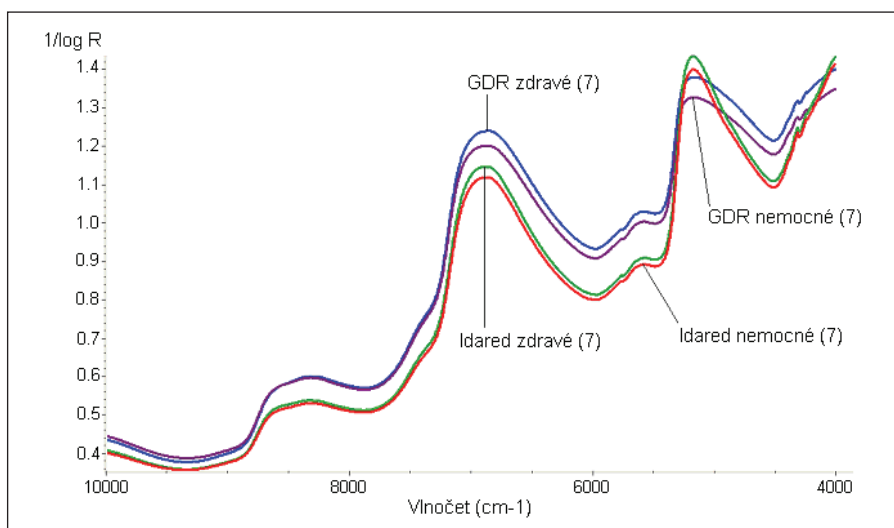
Dalším úkolem bylo zjistit, zda jde zaznamenat vývoj infekce houby *Gloeosporium album* (Osterw) během skladování. Odrůda Idared vykazuje rozdíly mezi clustery až při porovnání měření 1. týdne a 4. týdne, kdy se ukazuje diskriminační kříž. Při srovnávání dalších týdnů mezi sebou je možné postřehnout, že první viditelnější oddělení clusterů je v cca 14denních intervalech mezi jednotlivými měřeními (Obr. 7), což ukazuje na postupný rozvoj infekce, i když bez povrchových změn. Mezi časově vzdálenějšími údaji jsou clustery ve větší vzdálenosti, což splňuje účinnost aplikované metody. Rozvoj infekce je tedy pozvolný bez výraznějšího projevu.

U druhé odrůdy Golden Delicious Reinders pomocí diskriminační analýzy došlo k rozdělení spekter do jednotlivých tříd už na počátku pokusu. Diskriminační kříž je viditelný už při porovnání clusterů prvního a druhého týdne, ale vzdálenost clusterů není až tak markantní. Ukázkovým příkladem diskriminační analýzy, kdy došlo k totálnímu rozdělení clusterů, je obrázek 8 zobrazující první a čtvrtý týden měření. U této odrůdy je tedy zaznamenán výraznější postup infekce aplikované do plodu.

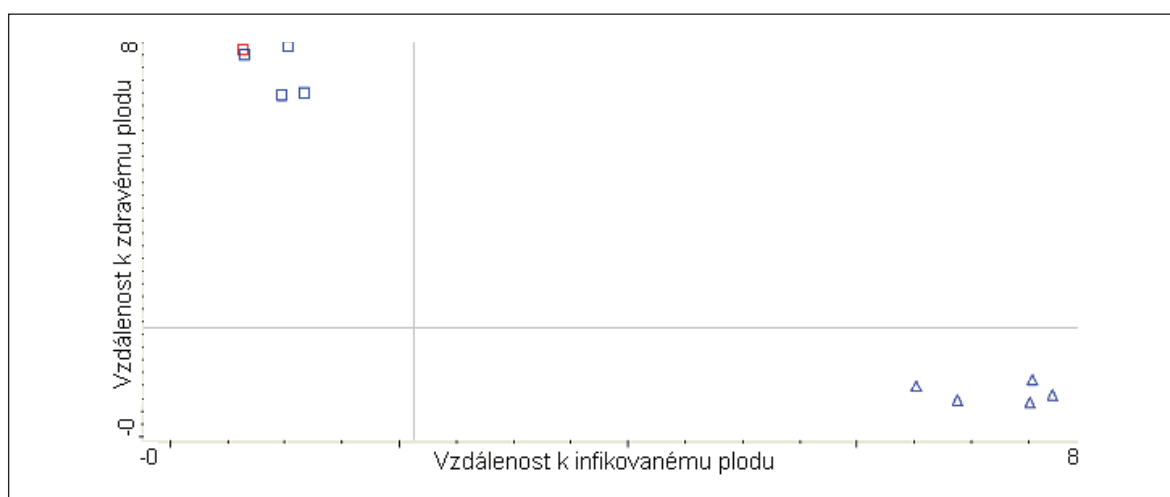
Viditelné projevy infekce houbou *Gloeosporium album* (Osterw) se projevily šestý týden měření, větší skvrny byly zaznamenány u odrůdy Golden Delicious Reinders; což značí, že tato odrůda je náchylnější k tomuto druhu infekce, což také potvrzují literární prameny. U druhé odrůdy nebyl projev napadení patogenem *Gloeosporium album* (Osterw) vizuálně tak patrný.



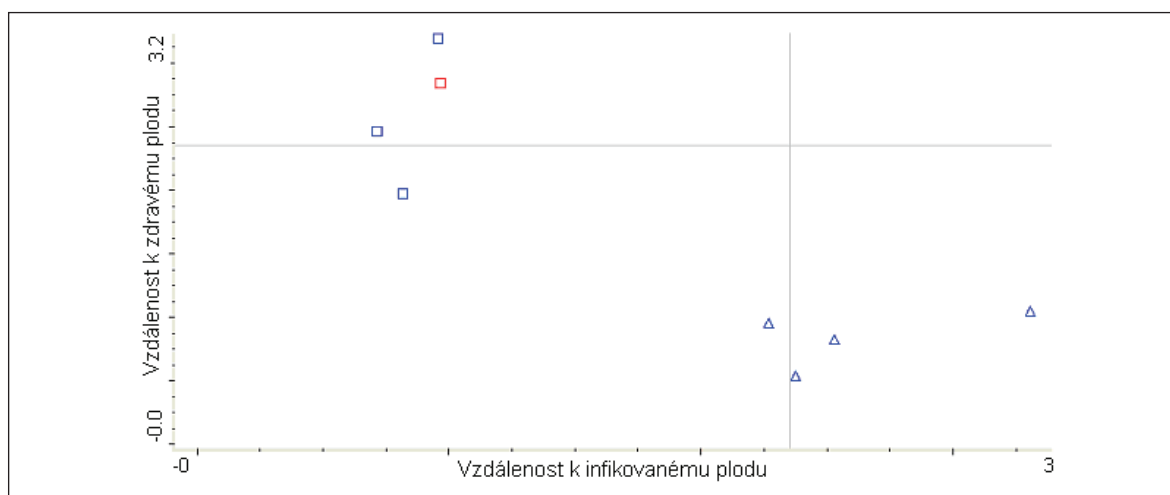
1: Spektra odrůd Idared a Golden Delicious Reinders (GDR) na začátku pokusu



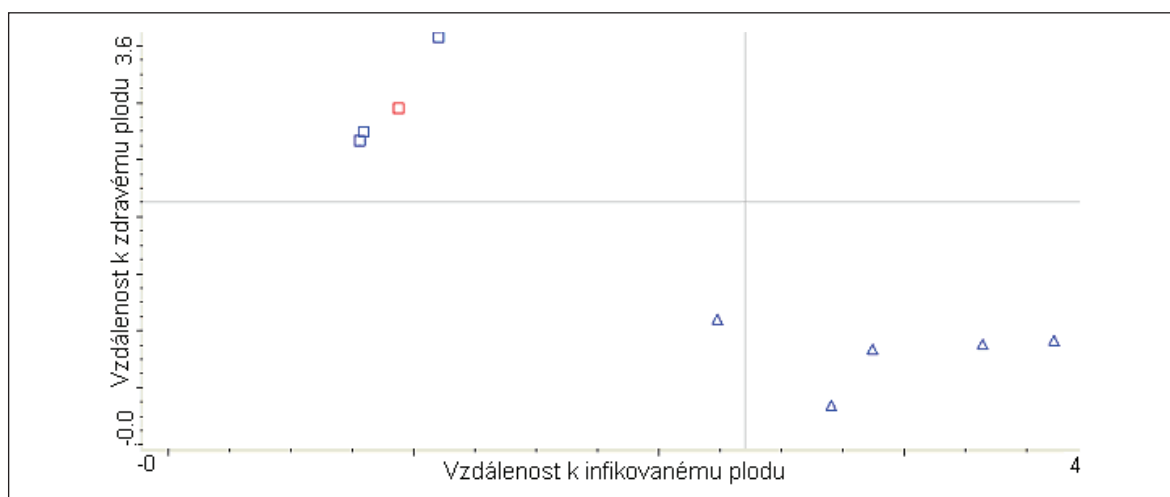
2: Spektra odrůd Idared a Golden Delicious Reinders (GDR) na konci pokusu



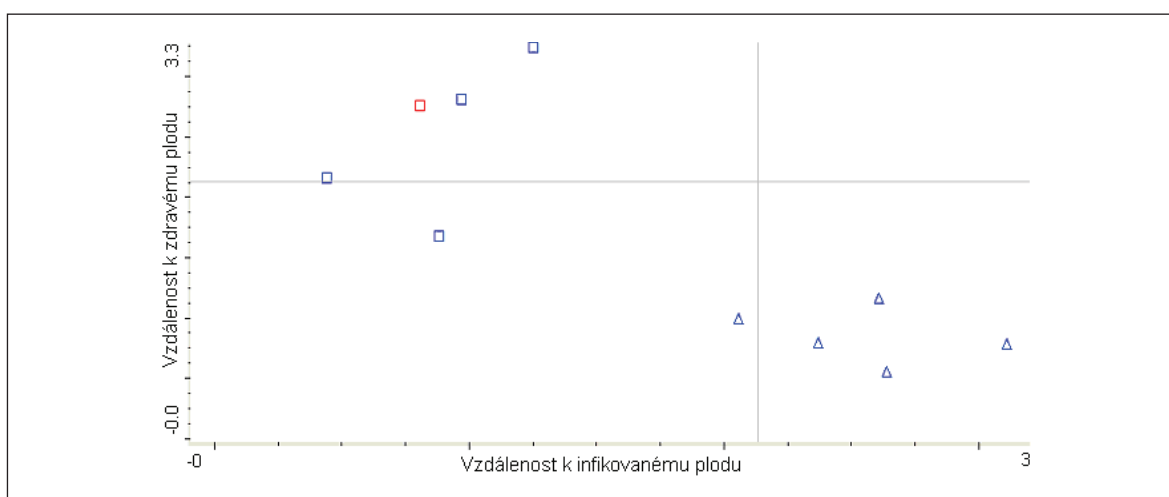
3: Diskriminační analýza u odrůdy Idared mezi plody zdravými (Δ) a infikovanými (□) v 1. týdnu



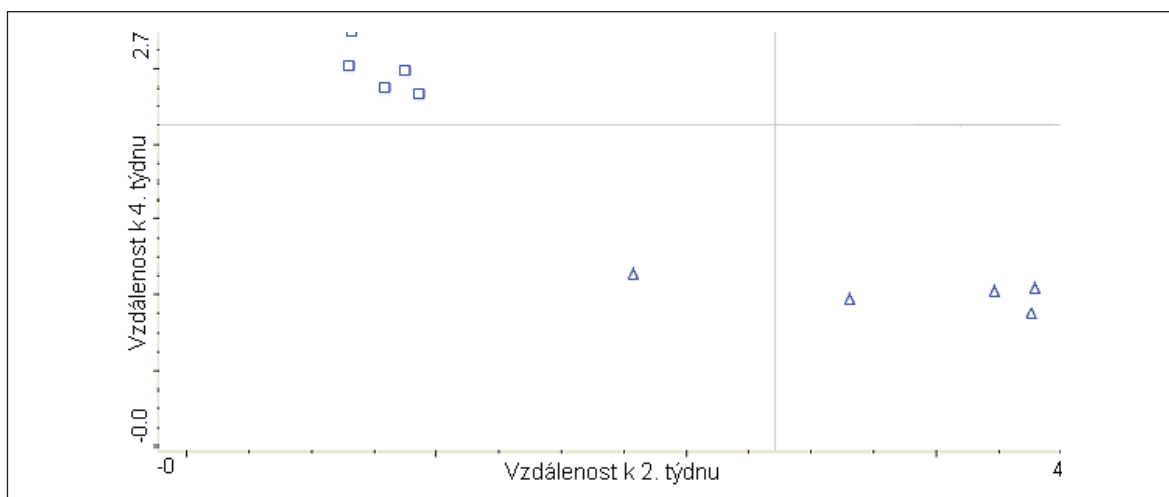
4: Diskriminační analýza u odrůdy Golden Delicious Reinders mezi plody zdravými (Δ) a infikovanými (□) v 1. týdnu



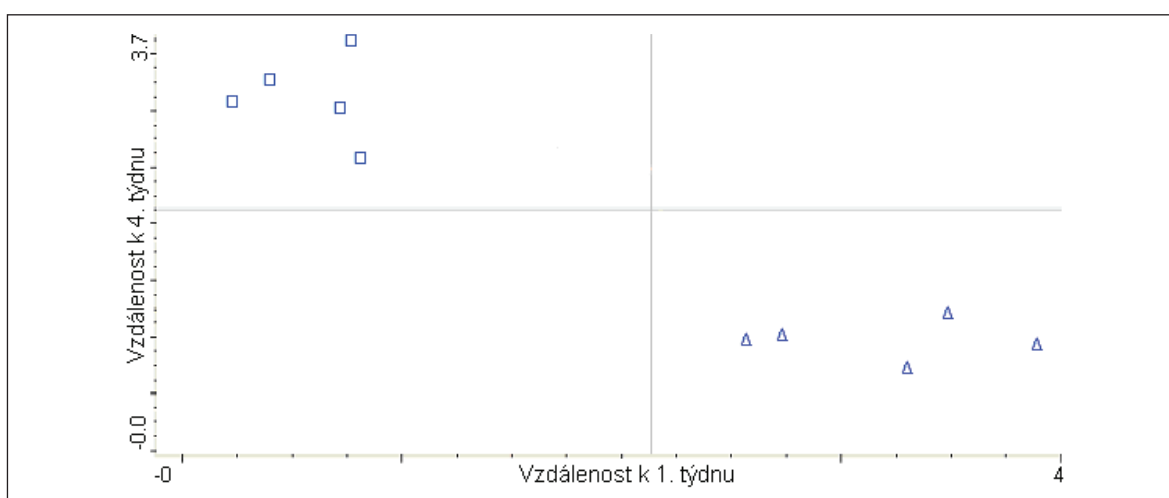
5: Diskriminační analýza u odrůdy Idared mezi plody zdravými (Δ) a infikovanými (□) v 7. týdnu



6: Diskriminační analýza u odrůdy Golden Delicious Reinders mezi plody zdravými (Δ) a infikovanými (□) v 7. týdnu



7: Rozdělení clusterů spekter 2. týdne (□) a 4. týdne (Δ) měření infikovaných plodů odrůdy Idared



8: Rozdělení clusterů spekter 1. týdne (□) a 4. týdne (Δ) měření infikovaných plodů odrůdy Golden Delicious Reinders

## ZÁVĚR

V naší práci jsme se zabývali možnostmi využití NIR spektroskopie při zjišťování jakostních vad u jablek odrůd Idared a Golden Delicious Reinders. Konkrétně se posuzoval vliv infekce patogena *Gloeosporium album* (Osterw) a jeho projevy u daných odrůd. Z dosažených výsledků lze usuzovat, že pomocí této techniky je možné identifikovat nakažené plody ještě před viditelnými projevy napadení. Diskriminační analýzou se ověřilo, že je rozdíl mezi nepoškozeným a poškozeným plodem už na počátku pokusu, tedy ve velmi krátkém časovém úseku od aplikace patoge-

na do plodu. Také jsme zaznamenali odlišení spekter během rozvoje infekce, přičemž u odrůdy Golden Delicious Reinders byl rozvoj gloeosporia výraznější než u Idaredu. Potvrzením byly i rozsáhlejší viditelné projevy onemocnění u této odrůdy v pozdějších týdnech sledování.

NIR spektroskopii je vhodné použít k identifikaci napadených plodů v praxi, protože se jedná o metodu rychlou a nedestruktivní, jejíž výsledky jsou k dispozici téměř okamžitě a je možné odstranit závadné plody ještě před uvedením do oběhu. Dojde tím i ke zvýšení jakosti prodáváných produktů zároveň k menším ekonomickým ztrátám a k vyšší spokojenosti zákazníka.

## SOURHN

Naším úkolem bylo zjistit možnost využití NIR spektroskopie při sledování průběhu změn skladovaných jablek nainfikovaných myceliem *Gloeosporium album* (Osterw) [*Pezicula malicorticis* (H. S. Jackson)] a to řezem pomocí skalpelu. K měření se použily odrůdy jablek Idared a Golden Delicious Reinders a to ve dvou skupinách po 20 plodech od každé odrůdy. První skupina jablek byla měřena bez poškození a druhá část byla naočkována. Sledování probíhalo po dobu sedmi týdnů, kdy jablka byla uskladněna v chladárně při teplotě  $\pm 3^\circ\text{C}$ . Jablka byla proměřována v režimu reflektance s rozlišením 8 a počtem scanů 100. Každý plod byl změřen čtyřikrát a k vyhodnocení byla použita průměrná spektra. K rozlišení spekter jablek do jednotlivých skupin (clusterů) se aplikovala diskriminační analýza. Tímto způsobem došlo k rozdělení zdravých a infikovaných jablek u obou odrůd už během prvního týdne od aplikace mycelia *Gloeosporium album* (Osterw). Průběh napadení jablek infekcí během doby skladování byl patrnější dle spektrální informace u odrůdy Golden Delicious Reinders, což se také potvrdilo výraznějším vizuálním projevem choroby. Odrůda Idared projevovала slabší odezvu na působení patogena, ale rovněž pomocí NIR spektroskopie došlo k odlišení infikovaných plodů.

NIR spektroskopie, odrůda Idared, odrůda Golden Delicious Reinders, *Gloeosporium*

## LITERATURA

BRYK, H.: Appearance and stability of *Pezicula alba* Gunth. resistant to benzimidazole fungicides. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 1997, 5: 79–82.

FRANCIS, F. J., BRAMLAGE, W. J., LORD W. J.: Detection of water-core and internal breakdown in delicious apples by light transmittance. *Proceedings American Society Horticulture Science*, 1965, 87: 78–84.

GOLIC, M., WALSCH, K. B.: Robustness of calibration models based of near infrared spectroscopy for in-line grading of stonefruit for total soluble solids content. *Analytica chimica acta*, 2006, 555: 286–291.

LAMMERTYN, J., NICOLAI, B., SMEDT, V. de, BAERDEMAEKER, J. de.: Non-destructive measurement of pH, soluble solids and firmness of Jonagold apples using NIR-spectroscopy. *Acta Horticulturae*, 2001, 562: 167–173.

LU, R.: Detection of bruises on apples using near-infrared hyperspectral imaging. *Transactions of the ASAE*, 2003, 46: 523–530.

MOONS, E., SINNAEVE, G., DARDENNE, P.: Non-destructive visible and NIR spectroscopy measurement for the determination of apple internal quality. *Acta Horticulturae*, 2000, 517: 441–448.

NIKOLAÍ, B. M., LÖTZE, E., PEIRS, A., SCHEERLINCK, N., THERON, K. I.: Non-destructive measurement of bitter pit in apple fruit using NIR hyperspectral imaging. *Postharvest Biology and Technology*, 2006, 40: 1–6.

SLAUGHTER, D. C., THOMPSON, J. F., TAN, E. S.: Non destructive determination of total and soluble solids in frash prune using near infrared spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology*, 2003, 28: 437–444.

XING, J., LANDAHL, S., LAMMERTYN, J., VRINDTS, E., BAERSEMAEKER, J. de.: Effects of bruise type on discrimination of bruised and non-bruised „Golden Delicious“ apples by VIS/NIR spectroscopy. *Postharvest Biology and technology*, 2003, 30: 249–258.

13. 4. 2006 – <http://botany.upol.cz/prezentace/petrzel/fytopato.doc>

Adresa

Ing. Jana Růžičková, Ing. Táňa Lužová, Ing. Květoslava Šustová, Ph.D., Ústav technologie potravin, Ing. Pavla Mýlová, Dr. Ing. Anna Němcová, Ústav posklizňové technologie zahradnických produktů, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika

