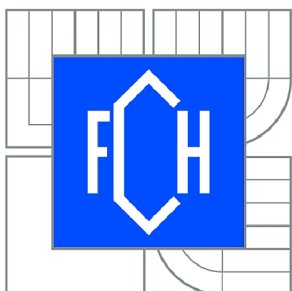




VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

# VLIV DUSÍKATÉHO HNOJENÍ A SUCHA NA KVALITU PŠENIČNÉHO ZRNA V PODMÍNKÁCH NORMÁLNÍ A ZVÝŠENÉ KONCENTRACE OXIDU UHLIČITÉHO

EFFECTS OF NITROGEN SUPPLY AND DROUGHT ON WHEAT GRAIN QUALITY UNDER THE  
AMBIENT AND ELEVATED CONCENTRATIONS OF CARBON DIOXIDE

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. GABRIELA MORAVCOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

PhDr. MIROSLAV HRSTKA, Ph.D.

BRNO 2015

## **ABSTRAKT**

Tato diplomová práce se zabývá vlivem dusíkatého hnojení, sucha a UV záření na kvalitu pšeničného zrna v podmínkách normální a zvýšené koncentrace oxidu uhličitého. Teoretická část se zabývá globálními změnami klimatu, skleníkovými plyny a hlavně vlivem zvýšené koncentrace oxidu uhličitého na rostliny. Rovněž je zde pojednáno o vlivu zvýšené hladiny oxidu uhličitého na kvalitu pšeničného zrna. V experimentální části byl ve vzorcích pšenice stanoven celkový obsah dusíku Kjeldahlovou metodou, obsah suchého i mokrého lepku, dále byla provedena stanovení na zjištění Zelenyho sedimentačního indexu, čísla poklesu a obsahu škrobu.

Výsledky této studie potvrdily ovlivnění kvality pšeničného zrna působením zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub>, dusíkatého hnojení, sucha i UV záření. Nejprůkaznější bylo ovlivnění zrna dusíkatou výživou, hnojení pozitivně ovlivnilo kvalitu zrna, došlo k nárůstu obsahu hrubé bílkoviny, zvýšil se obsah lepku i hodnoty Zelenyho sedimentačního testu, a také číslo poklesu. V důsledku nárůstu obsahu bílkovin došlo také k poklesu obsahu škrobu. Vlivem zvýšené hladiny oxidu uhličitého došlo k poklesům obsahu bílkovin i lepku, hodnot Zelenyho sedimentačního testu i čísla poklesu a naopak k nárůstu obsahu škrobu. Pokles hodnot Zelenyho sedimentačního testu vlivem zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> byl plně kompenzován dusíkatým hnojením.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Zvýšená koncentrace oxidu uhličitého, změna klimatu, obsah dusíku, pšenice.

## **ABSTRACT**

This diploma thesis deals with effects of nitrogen supply, drought and UV radiation on wheat grain quality under the ambient and elevated concentrations of carbon dioxide. The theoretical part deals with the global climate changes, greenhouse gases and especially with effects of elevated concentrations of carbon dioxide on plants. Also, it is dealt with effects of elevated concentrations of carbon dioxide on the wheat grain quality. In the experimental part nitrogen content by the Kjeldahl method, contents of dry and wet gluten, Zeleny test, falling number and content of starch in the wheat samples were determined.

The results of this study confirmed affecting the quality of the wheat grain from the elevated concentrations of CO<sub>2</sub>, nitrogen fertilization, drought and UV radiation. The most evident was the influence of nitrogen nutrition, fertilization positively affected the quality of grain, there was an increase in content of crude protein, gluten content, value of Zeleny sedimentation test, and falling number. As a result of the increase in protein content was also a decrease in starch content. Due to increased levels of carbon dioxide protein content and gluten, Zeleny sedimentation test values and falling number decreased and conversely starch content increased. The decrease of Zeleny sedimentation test by the influence of elevated CO<sub>2</sub> concentration was fully compensated by nitrogen fertilization.

## **KEY WORDS**

Elevated concentration of carbon dioxide, climate change, nitrogen content, wheat.

MORAVCOVÁ, G. *Vliv dusíkatého hnojení a sucha na kvalitu pšeničného zrna v podmínkách normální a zvýšené koncentrace oxidu uhličitého*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2015. 61 s. Vedoucí diplomové práce PhDr. Miroslav Hrstka, Ph.D..

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje byly správně a úplně citovány. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....  
podpis studenta

### **Poděkování**

*Touto formou bych chtěla poděkovat vedoucímu diplomové práce panu PhDr. Miroslavu Hrstkovi, Ph.D. za trpělivost, pomoc a odborné vedení. Dále bych chtěla poděkovat panu Ing. Karlu Klemovi za pomoc při statistickém zpracování a analýze výsledků, Ing. Kateřině Sůkalové za cenné rady a také paní Lence Somrové za pomoc v laboratoři.*



## OBSAH

<b>OBSAH</b> .....	<b>6</b>
<b>1 ÚVOD</b> .....	<b>8</b>
<b>2 TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>10</b>
2.1 Globální klimatická změna .....	10
2.2 Skleníkový efekt .....	11
2.2.1 Skleníkové plyny .....	12
2.2.2 Důsledky změn radiční bilance Země .....	15
2.3 Vliv zvýšené koncentrace CO <sub>2</sub> na fyziologické procesy rostlin .....	16
2.3.1 Fotosyntéza .....	16
2.3.2 Fotorespirace .....	19
2.3.3 Respirace .....	19
2.3.4 Vodivost průduchů .....	20
2.4 Vliv zvýšené koncentrace CO <sub>2</sub> na kvalitu pšeničného zrna .....	20
2.4.1 Složení pšeničného zrna .....	20
2.4.1.1 Bílkovinný komplex .....	20
2.4.1.2 Sacharidy .....	21
2.4.2 Metody hodnocení kvality pšeničného zrna .....	22
2.4.3 Vliv zvýšené koncentrace CO <sub>2</sub> na kvalitu pšeničného zrna .....	26
2.4.4 Vliv hustoty porostu .....	28
2.4.5 Rozdíly mezi kultivary .....	28
2.4.3 Vliv minerálních živin .....	29
<b>3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>31</b>
3.1 Materiál .....	31
3.2 Metody .....	31
3.2.1 Stanovení obsahu mokrého lepku ručním vypíráním dle normy EN ISO 21415-1 .....	31
3.2.2 Stanovení obsahu suchého lepku .....	32
3.2.3 Stanovení celkového dusíku dle Kjeldahla .....	33
3.2.4 Stanovení sedimentačního indexu - Zelenyho test dle ČSN EN ISO 5529 .....	34
3.2.5 Stanovení čísla poklesu dle ČSN EN ISO 3093 .....	35
3.2.6 Stanovení vybraných parametrů v rostlinném materiálu metodou NIRs .....	36
<b>4 VÝSLEDKY</b> .....	<b>38</b>
4.1 Stanovení celkového dusíku dle Kjeldahla .....	38

4.2	Stanovení obsahu mokrého lepku ručním vypíráním a stanovení suchého lepku .....	40
4.3	Stanovení Zeleného sedimentačního indexu .....	43
4.4	Stanovení čísla poklesu.....	45
4.5	Stanovení obsahu škrobu pomocí NIRs .....	47
<b>5</b>	<b>DISKUZE .....</b>	<b>52</b>
<b>6</b>	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>53</b>
<b>7</b>	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>54</b>
<b>8</b>	<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ .....</b>	<b>61</b>

# 1 ÚVOD

Od počátku industriální revoluce ve druhé polovině 18. století dochází k rychlému nárůstu koncentrace  $\text{CO}_2$ . Tehdy odpovídala koncentrace  $\text{CO}_2$  v atmosféře  $270 - 280 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$  ( $270 - 280$  ppm), a na počátku letošního roku byla koncentrace tohoto plynu již  $399,39 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Tato koncentrace  $\text{CO}_2$  je nejvyšší za posledních nejméně 2,1 milionu let. Ovšem, je nutno podotknout, že nedochází jen k nárůstu koncentrace oxidu uhličitého, ale také ostatních skleníkových plynů (vodní pára, oxid uhličité, oxidy dusíku, methan, ozon, freony), které se podílí na globálních změnách klimatu.

Za těchto podmínek vývoje atmosféry je nutno zkoumat a pochopit fyziologické procesy rostlin, abychom věděli, jak se na budoucí vysokou koncentraci  $\text{CO}_2$  budou schopny přizpůsobit. Problémem zůstává, že na rostlinách se důsledky působení vyšší koncentrace oxidu uhličitého projeví v různě dlouhém období, od řádů vteřin po desetiletí až století.

Co se týče funkcí  $\text{CO}_2$  v rostlinách, existují dva přímé fyziologické účinky tohoto plynu. Jako první funkci je třeba zmínit fakt, že oxid uhličité je aktivátorem enzymatické aktivity primárního enzymu Calvinova cyklu (temná fáze fotosyntézy), enzymu ribulóza-1,5-bisfosfátkarboxylázy/oxygenázy (RUBISCO). Druhou funkcí  $\text{CO}_2$  je být substrátem pro karboxylaci, kde se jedná o enzymovou reakci s primárním akceptorem ribulóza-1,5-bisfosfátem (RuBP). Po sledu reakcí nakonec vznikají primární produkty Calvinova cyklu, triózafosfáty.

Současná koncentrace oxidu uhličitého v atmosféře není schopna plně saturovat karboxylační aktivitu enzymu RUBISCO u  $\text{C}_3$  rostlin. Čím vyšší bude rozdíl mezi hladinami  $\text{CO}_2$  a  $\text{O}_2$ , tím vyšší bude pravděpodobnost navázání  $\text{CO}_2$  na tento enzym. Tento fakt zapříčiňuje přednostní karboxylační aktivitu enzymu na úkor aktivity oxygenázové. Tento fakt vede ke zvýšení rychlosti fotosyntézy a naopak potlačení fotorespiračního řetězce. Při řešení problematiky vlivu zvýšené koncentrace  $\text{CO}_2$  na rostliny se setkáváme s pojmem fotosyntetická aklimace na tuto koncentraci oxidu. Tuto fotosyntetickou aklimaci lze charakterizovat jako jakoukoliv změnu struktury, popřípadě chování, asimilačního aparátu, která je vyvolána právě vyšší koncentrací  $\text{CO}_2$ . Dalším termínem, který se v této problematice vyskytuje, je aklimační deprese fotosyntézy, což je stav, kdy je asimilační kapacita rostliny rostoucí při vyšší koncentraci  $\text{CO}_2$  nižší v porovnání s kontrolními rostlinami. Existuje několik hypotéz vysvětlujících nástup této deprese, jako například změna koncentrace anorganického fosfátu, změna obsahu nebo aktivity enzymu RUBISCO, inhibice transkripce genů a další. Těmto hypotézám se věnuje kapitola 2. 3. 1. Nárůstem koncentrace  $\text{CO}_2$  nedochází jen ke změnám ve fotosyntetických pochodech, ale i v procesu fotorespirace, respirace i vodivosti průduchů.

Předložená diplomová práce zkoumá vliv zvýšené koncentrace oxidu uhličitého na kvalitu pšeničného zrna. Kvalita pšenice obecné (*Triticum aestivum*) je z hlediska průmyslového využití velice důležitá. Tato vlastnost je sice geneticky determinovaná, ale je také závislá na změnách počasí a různých zemědělských opatřeních, a je dána chemickým složením, poměrem složek zrna a samozřejmě činností enzymů. Z hlediska složení nejvíce ovlivňuje potravinářskou jakost pšenice bílkovinný komplex, který je asi z 20 % tvořen albuminy a globuliny a zhruba z 80 % lepkovými bílkovinami. Jak je známo, lepek je složitým heterogenním komplexem, jehož frakcemi jsou gliadin a glutenin. Tyto lepkové bílkoviny během hydratace a příprava těsta dávají za vznik viskoelastickému komplexu, který významně ovlivňuje kvalitu budoucích výrobků. Další důležitou složkou zrna jsou sacharidy, kde je nejvýznamnější složkou škrob.

Jeho obsah se odvíjí od obsahu proteinů v zrně, jelikož mezi těmito obsahy platí nepřímá úměrnost, a většinou se pohybuje v rozmezí 63 – 72 %.

K hodnocení kvality pšeničného zrna se užívá mnoho metod, v závislosti od zjišťovaného parametru. K orientačnímu zjištění výtěžnosti mouky se užívá objemové hmotnosti nebo hmotnosti tisíce zrn. Důležitým parametrem je obsah hrubé bílkoviny v zrně, ten se zjišťuje například Kjeldahlovou metodou, která byla v práci použita, nechemickými metodami NIR a NIT nebo také spalovací Dumasovou metodou. Kvalita lepku je důležitým sledovaným faktorem jakosti zrna, jelikož ovlivňuje objem výsledného produktu, a zjišťuje se Zelenyho sedimentačním testem, nebo SDS sedimentačním testem. Stanovuje se také obsah suchého i mokrého lepku. Dalším kvalitativním parametrem je skrytá porostlost zrna, stanovující se metodou čísla poklesu. Toto porůstání totiž negativně ovlivňuje těsto i objem upečeného pečiva. Dále se jakost pšenice zjišťuje pekařským pokusem, například pomocí Rapid-Mix-Testu.

V této diplomové práci byl studován vliv dusíkatého hnojení, sucha a UV záření na kvalitu pšeničného zrna pěstovaného v podmínkách normální a zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> pomocí stanovení obsahu suchého i mokrého lepku, obsahu dusíku a hrubé bílkoviny Kjeldahlovou metodou, obsahu škrobu pomocí NIRs, Zelenyho sedimentačního indexu a čísla poklesu.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Globální klimatická změna

Změny klimatu Země nejsou žádnou novinkou v historii lidstva, z geologických průzkumů vyplývá, že v minulosti docházelo ke střídání dob ledových a meziledových s periodou 103, 42 a 24 tisíc let [1]. Tyto změny probíhají i v současnosti, a to v důsledku působení kontinentálních pohybů, dopadajícího slunečního záření, sopečné činnosti, dopadu meteoritů, pohybu ledovců, oceánů a také změn suchozemské a vodní flory i fauny.

Pod pojmem globální klimatická změna je třeba rozumět „dlouhodobou odchylku klimatických parametrů Země, například teplot, srážek nebo rychlosti větru, od průměrů a trendů, které charakterizovaly naši planetu přibližně od začátku 20. století [1]. Tyto změny jsou antropogenního původu, jelikož přirozené procesy jako například dýchání nebo sopečná činnost jsou v ekosystému v rovnováze, a právě antropogenní emise, byť nižší, jsou rušivými elementy této rovnováhy [2]. Emise působené lidskou činností se projevují uvolňováním skleníkových plynů. Mezi nejdůležitější skleníkové plyny s vazbou na lidskou činnost patří oxid uhličitý, methan, oxidy dusíku, freony a vodní pára. Blíže se tomuto tématu věnuje kapitola 2.2.

Fakt, že globální změny klimatu jsou způsobeny hlavně lidskou činností, vyplývá z mnoha odborných prací zabývajících se právě tímto problémem. Přibližně v polovině 18. století, před počátkem průmyslové revoluce, odpovídala koncentrace  $\text{CO}_2$  v atmosféře  $270 - 280 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$  ( $270 - 280 \text{ ppm}$ ), a v letošním roce činila koncentrace tohoto plynu již  $399,39 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ , což znamená rozdíl ve výši 37 %. V posledních letech nejenom narůstá koncentrace  $\text{CO}_2$ , ale dochází i ke zvyšování rychlosti tohoto nárůstu. Pro představu, během let 1970 – 1979 byl nárůst  $1,3 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ , a v letech 2000 – 2006 změna činila již  $1,9 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$  [3, 4]. Již je jisté, že dnešní atmosférická koncentrace  $\text{CO}_2$  je nejvyšší za posledních nejméně 2,1 milionu let [5].

Tyto hodnoty byly získány různými analýzami vzorků arktických ledů, izotopovou analýzou letokruhů, měřením obsahu  $\text{CO}_2$  v atmosféře na různých místech Země, a také modelovými studiemi, vycházejícími z výpočtů spotřeby fosilních paliv. Jak již bylo uvedeno výše, emise  $\text{CO}_2$  narušující rovnováhu jsou antropogenního původu, a tudíž budou stále pokračovat. Nejedná se zde jen o spotřebu fosilních paliv, ale také o rozsáhlé kácení stromů (15 – 20 % celkových emisí) a změny ve využívání půdy [6].

V období 2000 – 2006 byly uváděny odhady ročních emisí  $\text{CO}_2$  v důsledku spotřeby fosilních paliv na 7,6 gigatun (Gt) uhlíku a hodnota 1,5 Gt uhlíku byla uváděna v souvislosti s odlesňováním. Absorpce uhlíku vodními plochami odpovídala 2,2 Gt uhlíku ročně, fauna pohltila 2,8 Gt uhlíku a v atmosféře zůstalo přibližně 4,1 Gt uhlíku. Do této bilance nebyl zahrnut veškerý uhlík (asi 1,8 Gt uhlíku ročně), jelikož není úplně známo, kde se vyskytuje a spotřebovává. Pro tento blíže neurčený zbytek se vžil termín „chybějící úložiště“. Nejpravděpodobněji se jako redepozitory tohoto uhlíku jeví suchozemské ekosystémy a ekosystémy lesa. V porovnání s oceány jsou suchozemské ekosystémy malým úložištěm uhlíku, ale objemy ročních toků uhlíku mezi povrchem terestrických ekosystémů a atmosférou jsou velmi podobné s objemy toků uhlíku mezi oceány a atmosférou [6]. Z těchto informací vyplývá, že přibližně 20 % atomů uhlíku v  $\text{CO}_2$  v atmosféře koluje právě mezi atmosférou a terestrickými ekosystémy [7].

Odlesňování v tropických oblastech způsobuje uvolňování přibližně 105 Gt uhlíku ročně, tento proces je ve výsledku spojen s oxidací organického uhlíku na  $\text{CO}_2$  [3]. Giffordem [8] byl vysloven odhad spotřeby uhlíku v důsledku fotosyntézy, a to  $0,2 \pm 2,0$  Gt uhlíku za rok. Výše uvedené odhady znamenají, že neodlesněné suchozemské ekosystémy jsou úložištěm pro  $2,5 \pm 2,7$  Gt uhlíku ročně. Tento výsledek se shoduje s výše uvedeným chybějícím úložištěm uhlíku v koloběhu Země [9]. Tento fakt potvrzují i simulační modely a pozorování obsahu  $\text{CO}_2$  v atmosféře. Z nichž totiž vyplývá, že jižní polokoule planety je slabým úložištěm, a severní polokoule je důležitým místem uvolňování a ukládání  $\text{CO}_2$ , a to z důvodu vyššího pokrytí suchozemskými ekosystémy [6].

## 2.2 Skleníkový efekt

Teplota planety Země je dána rovnováhou mezi slunečním krátkovlnným zářením a vyzářenou dlouhovlnnou energií zemského povrchu. Krátkovlnné záření procházející atmosférou je zeslabováno odrazem a rozptylem aerosoly a mraky, a zbytek tohoto záření je absorbován, čímž se povrch Země ohřívá, což vede ke zvýšení množství vyzařované energie z povrchu Země. Tato energie neboli dlouhovlnné infračervené záření, je z velké části absorbována atmosférou, ovšem část tohoto záření je opakovaně vyzářena směrem k zemskému povrchu. Ta část, jež je znovu vyzářena, zvyšuje účinek krátkovlnného slunečního záření, jelikož způsobuje zahřívání, jak zemského povrchu, tak i spodních vrstev atmosféry [10, 11].

Označení skleníkový (obr. 1) tento jev dostal proto, že má podobnou, ne-li stejnou, funkci jako skleník. Proto se i plyny způsobující tento jev označují jako plyny skleníkové.



Obr. 1: Schéma skleníkového efektu [12]

## 2.2.1 Skleníkové plyny

Drtivá většina atmosféry (až 99,88 %) skládající se z dusíku, kyslíku a argonu, není příliš schopna pohltit dlouhovlnné záření zemského povrchu. Naproti tomu, velmi malá část atmosféry, která je tvořena tzv. skleníkovými plyny (vodní pára, oxid uhličitý, oxidy dusíku, methan, ozon, freony), je schopna silné absorpce tohoto dlouhovlnného infračerveného záření. Každý skleníkový plyn má jiné maximum absorpce (viz tab. 1) [10, 13].

Tab. 1: Hlavní pásma absorpce některých složek skleníkových plynů [13]

Skleníkový plyn	Vlnová délka absorpčního pásu [ $\mu\text{m}$ ]
Vodní pára	6,3 a 15 - 20
Oxid uhličitý	4,3 a kolem 15; velice účinné 12,9 - 17,1
Methan	7 - 13
Ozon	kolem 9,6 a 14,1
Atmosférické okno	7 - 13

Methan je významným skleníkovým plynem, jednak proto, že absorbuje v široké oblasti spektra, ale i z důvodu, že se na absorpci dlouhovlnného záření podílí až z 20 %. V současnosti je jeho koncentrace asi dvojnásobná oproti období před průmyslovou revolucí, ovšem dnes rychlost nárůstu jeho koncentrace mírně klesá. Co se týče ozonu, ten se na skleníkovém efektu podílí minimálně, a to z důvodu jeho velmi nízké koncentrace v atmosféře. Vodní pára se jako skleníkový plyn samostatně nehodnotí, jelikož je její koncentrace v ovzduší zhruba o 5 řádů nižší než koncentrace  $\text{CO}_2$ . Její obsah se výrazně zvyšovat nemůže, a to z důvodu limitace teplotou vzduchu. Za určité teploty může vzduch obsahovat jen dané množství vodní páry, a toto množství stoupá při nárůstu teploty vzduchu. V této problematice se používá i termínu "atmosférické okno", označující oblast spektra v rozmezí 7 - 13  $\mu\text{m}$ , kde se nenachází žádný výrazný pás absorpce. Zde absorbují jen oxidy dusíku ( $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{N}_2\text{O}_4$ ,  $\text{N}_2\text{O}_5$ ), uhlovodíky ( $\text{CH}_4$ ,  $\text{C}_2\text{H}_6$ ,  $\text{C}_2\text{H}_4$ ) a freony ( $\text{HCFC-22}$ ,  $\text{CF}_4$ ,...)[10, 14].

Množství záření, jež jsou plyny schopny absorbovat, se vyjadřuje násobkem absorpce  $\text{CO}_2$ . Při vyjadřování relativního potenciálu zahřívání atmosféry je nutno vzít v úvahu i dobu života těchto plynů v atmosféře:

$\text{CO}_2$  : 1  
 $\text{CH}_4$  : 27  
oxidy dusíku : 300  
CFC-11 : 4 000  
CFC-12 : 8 000

Z těchto údajů vyplývá, že i nízké koncentrace plynů mohou velmi zvyšovat absorpci dlouhovlnného záření. Z pomoci těchto hodnot lze získat hodnoty, označované jako "relativní globální potenciál oteplení, které jsou výsledkem součinu absorpce ovlivnění vlastnostmi plynu a doby jeho výskytu v atmosféře. Pokud tento potenciál vynásobíme koncentrací určitého plynu v atmosféře, získáme údaj o podílu tohoto plynu na globální oteplování [14].

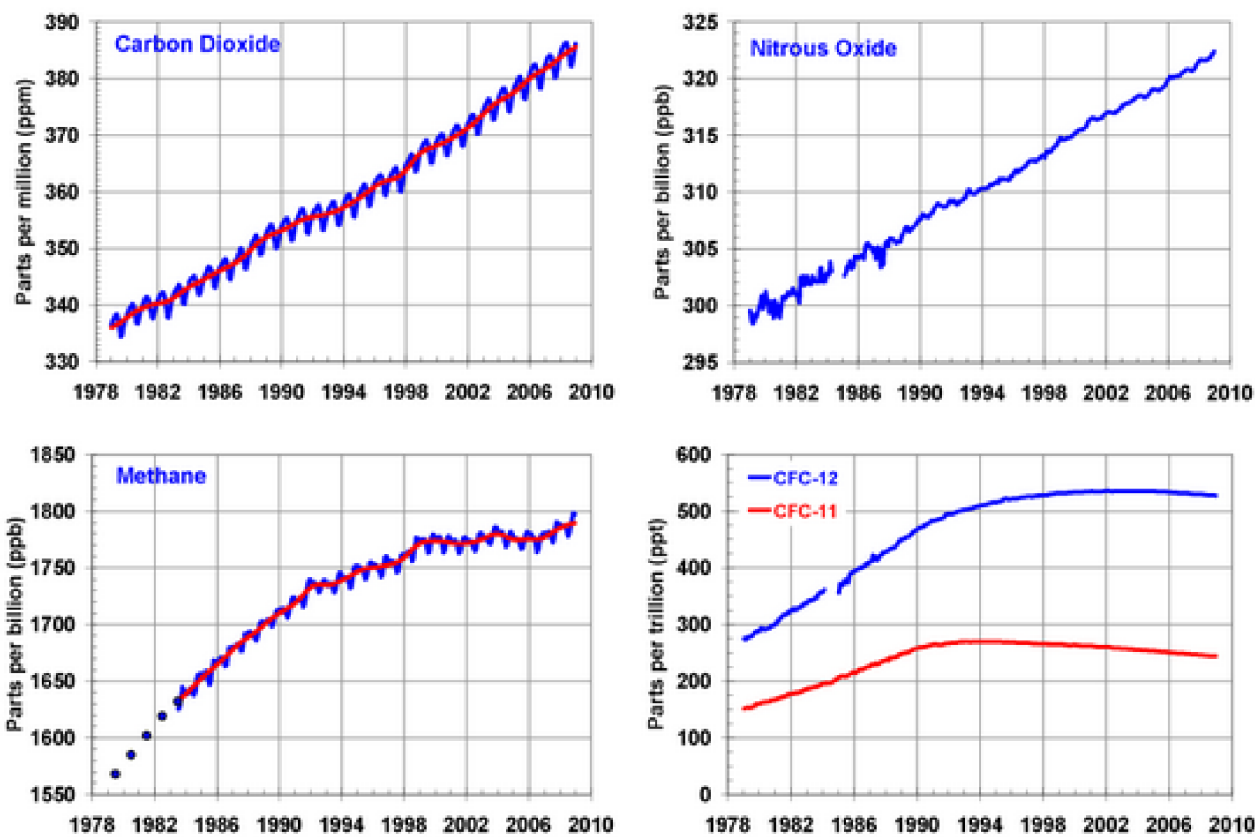
Z výše řečených faktů vyvstává, že na absorpci dlouhovlnného záření se nepodílí jen oxid uhličitý, ale i syntetické plyny, které se dříve užívaly v chladiřenském nebo kosmetickém průmyslu, tzv. freony. Právě tyto plyny absorbují až  $10^4$  krát více než  $\text{CO}_2$ . Z chemického hlediska jsou freony halogenderiváty uhlovodíků obsahující fluor nebo chlor. Tyto plyny se v troposféře vyskytují 65 - 110 let. Až ve stratosféře, ve výšce nad 25 kilometrů, se fotolýzou rozkládají za uvolnění vysoce reaktivního chloru. Tento reaktivní chlor, dokud se nesloučí s vodíkem za vzniku HCl, velmi účinně rozkládá ozon. Tato reakce freonů je hlavním důvodem rozrušování ozónové vrstvy. Pokud bude produkce těchto plynů stále stejná, dojde ke snížení koncentrace  $\text{O}_3$  ve výšce 30 kilometrů asi o 15 % a ve výšce 45 kilometrů asi o 40 %. Kdyby došlo k poklesu o 50 %, snížila by se teplota horní stratosféry o 20 K, a to díky poklesu absorpce slunečního krátkovlnného záření [10].

Dnešní koncentrace hlavních skleníkových plynů jsou zhruba následující  $399,39 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$   $\text{CO}_2$ ,  $322 \text{ nmol}\cdot\text{mol}^{-1}$   $\text{N}_2\text{O}$  a asi  $1\,797 \text{ nmol}\cdot\text{mol}^{-1}$   $\text{CH}_4$  [11]. Pro dobu na počátku průmyslového rozvoje (obr. 2) tyto hodnoty činily jen asi  $280 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$  a  $700 \text{ nmol}\cdot\text{mol}^{-1}$   $\text{CH}_4$ . Co se týče  $\text{N}_2\text{O}$  byl zjištěn pozvolný nárůst jeho koncentrace v předešlých 300 letech z 260 na  $285 \text{ nmol}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Jak lze vidět, koncentrace methanu a oxidu dusného jsou mnohem nižší než je obsah oxidu uhličitého v ovzduší, což ovšem neznamená menší riziko, protože právě tyto plyny mají větší termický účinek. V případě  $\text{CH}_4$  je to asi dvacetkrát a u  $\text{N}_2\text{O}$  asi dvousectkrát [15].

V historii, během počátku posledních dvou meziledových dob, se koncentrace  $\text{CH}_4$  až dvojnásobně zvyšovala, a to z 350 až na  $650 \text{ nmol}\cdot\text{mol}^{-1}$ , ovšem celkově byla nižší než jeho dnešní hladina. Z měnicích se koncentrací methanu během přechodů z dob ledových do meziledových a zpět, je jasné, že nárůst teploty o 1 °C způsobí nárůst koncentrace  $\text{CH}_4$  o  $50 \text{ nmol}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Tyto změny jsou způsobeny změnami rozlohy mokřadů. Methan je přirozeně se vyskytující látkou, jehož zdroje jsou například mokřady, živočichové, spalování biomasy, oceány nebo jezera. Díky poločasů života methanu v ovzduší, který je zhruba 10 let, byl jeho obsah na planetě celkem vyrovnaný, ale v posledních letech dochází i k jeho nárůstu koncentrace. Tento nárůst je působen rychlejším uvolňováním methanu z permafrostu pevnin a mělkého dna Severního moře [16]. Snížení obsahu  $\text{CH}_4$  je zapříčiněno jeho oxidací v troposféře a také spotřebou bakteriemi v půdách [15].

Koncentrace  $\text{N}_2\text{O}$ , podobně jako  $\text{CH}_4$ , také v historii kolísala. V dobách meziledových docházelo ke zvyšování ze 190 na  $265 \text{ nmol}\cdot\text{mol}^{-1}$ , a to hlavně kvůli snížení jeho odbourávání ve stratosféře [15].





Obr. 2: Vývoj koncentrací  $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ , methanu, trichlorofluoromethanu (CFC-11) a dichlorodifluoromethanu (CFC-12) v období let 1979 – 2008 [17]

Během posledních 300 let docházelo k nárůstu koncentrace  $\text{N}_2\text{O}$  průměrně o  $6 \text{ nmol}\cdot\text{mol}^{-1}$  za 100 let. Průměrný obsah methanu v atmosféře za to stejné období činil  $1\,115 \text{ nmol}\cdot\text{mol}^{-1}$ , což je přibližně o 40 % méně než v současnosti. K největšímu nárůstu došlo až ve 20. století, ovšem poslední dobou se rychlost zvyšování koncentrace  $\text{CH}_4$  snížila, ale pořád nárůst činí 0,60 % ročně. Naproti tomu rychlost zvyšování koncentrace  $\text{N}_2\text{O}$  je sice menší (0,25 %), ale tento plyn v atmosféře zůstává delší dobu, v absorpci dlouhovlnného infračerveného záření je účinnější a také hraje roli při rozrušování ozonové vrstvy. Oba tyto plyny se také do ovzduší dostávají z rýžovišť, tyto zaplavené plochy v produkci methanu přispívají až z 12 % [18].

V této souvislosti bylo zjištěno, že v produkci těchto plynů jsou značné rozdíly v závislosti na druhu půdy, toto zjištění významně ztěžují odhady vývoje globálních emisí skleníkových plynů [19].

Dále bylo také zjištěno, že zvyšování obsahu  $\text{CO}_2$  může ovlivňovat emise ostatních skleníkových plynů. Při zdvojnásobení koncentrace tohoto plynu dojde ke vzrůstu emisí o 10 – 20 %, a to z důvodu vyšší depozice dusíku, jež zvyšuje produkce sušiny. Toto indukuje rychlejší rozklad včetně metanogeneze. Obecně lze půdu považovat za důležitý zdroj skleníkových plynů [20].

Nejvýznamněji se půda podílí právě na emisích  $\text{CH}_4$  a  $\text{CO}_2$ . Za rok přijde do ovzduší zhruba 0,54 Gt methanu, z nichž okolo 0,1 Gt pochází ze spalování fosilních paliv a toto stejné množství se uvolňuje z výkalů zvířat. Zbytek, což činí více než polovinu celkových emisí, pochází právě z půdy a vodních ekosystémů [21]. Jak již bylo uvedeno výše, methan je produkován půdou, mokřady,

pěstováním rýže, skládkami, prací termitů a těžbou ropy a zemního plynu. Rozdělení produkce je následující. Mokřady emitují zhruba 0,1 Gt CH<sub>4</sub>, pěstováním rýže se uvolňuje okolo 0,05 Gt CH<sub>4</sub>, skládky odpadů produkují 0,022 Gt CH<sub>4</sub> a termiti přispívají 0,02 Gt ročně. Ovšem pomocí půdních mikroorganismů dochází i k oxidaci methanu, tato spotřeba ročně dělá asi 0,04 Gt CH<sub>4</sub>. Touto funkcí disponují mikroorganismy všech typů půd, ale hnojení průmyslovými hnojivy tuto funkci snižují. Kromě těchto mikroorganismů existují i methanogenní organismy nacházející se v hloubkách moří, produkující velké množství methanu. Ovšem zatím nebyly nalezeny žádné organismy, které by anaerobně zpracovávaly methan, i když tomu nasvědčují biogeochemické předpoklady [10, 21].

## 2.2.2 Důsledky změn radiční bilance Země

Povrch Země průměrně vyzařuje okolo 390 W/m<sup>2</sup>, záření atmosféry měřené družicemi je asi 237 W/m<sup>2</sup>. Rozdíl těchto záření (153 W/m<sup>2</sup>) je vychytáván atmosférou. Ovšem absorpce přímého záření Slunce atmosférou činí asi 237 W/m<sup>2</sup>. Tudíž při absenci skleníkového efektu by se Země, jak již bylo řečeno, ochladila, a to až na -15 °C.

Více než tři čtvrtiny záření zemského povrchu do vesmírného prostoru náleží vlnovým délkám v rozsahu 7 - 13 μm. Záření procházející mimo toto okno je atmosférou z velké většiny absorbováno, a tím jde do vesmíru méně záření.

Při nárůstu teploty atmosféry v důsledku vysoké koncentrace CO<sub>2</sub> dojde k dalšímu zvýšení teploty díky vodní páře. Při zvýšení teploty dojde totiž ke zvýšení výparu, čímž se zvýší obsah vody v atmosféře. Ve výsledku tak dojde k zesílení skleníkového efektu, a vodní pára navíc uvolňuje další teplo při kondenzaci na dešťovou kapku.

Vlivem zvýšení teploty vzduchu dojde ke zvýšení teploty vod, což způsobí vyšší výpar a obsah vody ve vzduchu. Tato změna ovlivní celkovou oblačnost. A právě oblačnost zvyšuje albedo, což je míra odrazivosti povrchu tělesa, naší planety až na 30 % z původních 10 % při jasné obloze. Nárůst albeda již jen o 0,5 % je roven snížení skleníkového efektu zdvojnásobením obsahu CO<sub>2</sub> na polovinu. Ale i mraky mají významnou roli v této problematice, vykazují totiž účinnost při absorpci infračerveného záření, a to až 25 - 50 W/m<sup>2</sup> [22].

Během minulého století absorpce záření atmosférou vzrostla zhruba o 2,2 W/m<sup>2</sup>. Zajímavé je, že na tomto zvýšení mají svůj podíl plyny, kromě CO<sub>2</sub>, minimálně z 50 % [10].

Pokud lidstvo půjde v dosavadních šlépějích v produkci skleníkových plynů, tak se jen v důsledku skleníkového efektu jimi vyvolaného zvýší teplota v následujících desetiletích o 1,2 - 5 °C. Z matematických předpovědních modelů též vyplývá, že atmosféra teplejší planety bude obsahovat i více vlhkosti. Ovšem celkové globální oteplení bude nerovnoměrné. V polárních oblastech bude tento efekt asi 1,5 - 3 krát zesílen, největší bude na okraji zaledněných oblastí, a naopak ve středních zeměpisných šířkách bude větší sucho [10, 22].

## 2.3 Vliv zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> na fyziologické procesy rostlin

Při úvahách o důsledcích zvýšeného obsahu atmosférického CO<sub>2</sub> se vychází z předpokladu nárůstu ze současných 399,39 (celosvětový průměr na počátku letošního roku) na 560 μmol·mol<sup>-1</sup> do roku 2060 [23]. Toto zvýšení koncentrace se na rostlinách projeví v různě dlouhém období. Takřka ihned, v rámci sekund až minut, dojde k ovlivnění karboxylačních reakcí, jež se uskutečňují v chloroplastech rostlinných buněk. Asimilace a transpirace listů je ovlivňována v časovém měřítku hodin až týdnů, naopak na růstu rostliny se změna projeví až během týdnů až měsíců. Celkový důsledek tohoto nárůstu koncentrace se projeví až v rámci let až desetiletí [24, 25, 26]. V řádu století pak může docházet ke změnám biodiverzity, využití půdy rostlinami i změnám druhového složení celého ekosystému [25].

Oxid uhličitý má na rostliny dva přímé fyziologické účinky. Molekuly tohoto plynu jsou aktivátory enzymatické aktivity primárního enzymu Calvinova cyklu, ribulóza-1,5-bisfosfátkarboxylázy/oxygenázy, tzv. RUBISCO. Při této reakci dojde nejprve k navázání jedné molekuly CO<sub>2</sub> na inaktivní enzym. Jedná se o pomalý vratný děj, který se nazývá karbamylace, a v druhém kroku probíhá rychlá nevratná reakce, při které se naváže hořečnatý kationt a vznikne aktivovaný komplex. Tento celý děj je katalyzován enzymem RUBISCO-aktivázou. Druhá funkce CO<sub>2</sub> spočívá v tom, že je substrátem pro karboxylaci, což je enzymová reakce s primárním akceptorem RuBP (ribulóza-1,5-bisfosfátem). Nejprve při karboxylaci dojde k navázání CO<sub>2</sub> na aktivní místo enzymu RUBISCO, které se obnažilo při karbamylaci, a vznikne komplex RUBISCO<sub>akt</sub>-CO<sub>2</sub>. Tento komplex následně reaguje s molekulou RuBP, čímž vznikají triázofosfáty (asimiláty), které jsou primárními produkty Calvinova cyklu.

Oxid uhličitý je tedy aktivátorem a současně i substrátem.

### 2.3.1 Fotosyntéza

Dnešní koncentrace CO<sub>2</sub> není schopna plně saturovat karboxylační aktivitu enzymu RUBISCO u C<sub>3</sub> rostlin. Čím vyšší bude rozdíl mezi hladinami CO<sub>2</sub> a O<sub>2</sub>, tím vyšší bude pravděpodobnost navázání CO<sub>2</sub> na enzym. Tento fakt zapřičiňuje přednostní karboxylační aktivitu enzymu na úkor oxygenázové (viz dále), což vede ke zvýšení rychlosti fotosyntézy a naopak potlačení fotorespiračního řetězce [27].

Z vědeckých prací vyplývá, že k nárůstu rychlosti asimilace oxidu uhličitého dochází až při intenzitě slunečního záření vyšší než 250 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>. Pokud je intenzita světla nižší, dochází k limitaci fotosyntézy množstvím dopadajících fotonů a rychlost se tím pádem nemění [28]. Pro důsledky působení zvýšené hladiny CO<sub>2</sub> je důležitým faktorem i teplota a její interakce s tímto oxidem. Při vyšší koncentraci oxidu uhličitého se teplotní optimum posouvá k teplotám vyšším a také dochází k jeho zužování.

Při zkoumání vlivu oxidu uhličitého na rostliny se setkáváme s pojmem fotosyntetická aklimace na zvýšenou koncentraci CO<sub>2</sub>, což obnáší jakoukoliv změnu struktury nebo chování asimilačního aparátu, která je způsobena právě hladinou CO<sub>2</sub> [2]. Tyto změny jsou velice různorodé, ale obecně lze říci, že stimulace rychlosti asimilace klesá, ponejvíce při nedostatečné minerální výživě, s dobou působení zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub>.

Pro stav, při kterém je asimilační kapacita rostliny pěstované ve zvýšené koncentraci CO<sub>2</sub> nižší v porovnání s kontrolními rostlinami, se používá termín aklimační deprese fotosyntézy [26, 30, 31, 32]. Tento pokles je též variabilní a ve většině případů se pohybuje v rozmezí 30 – 60 % původních hodnot

[26, 30, 31, 32], ovšem nebyl prokázán ve všech pokusech s mnoha rostlinami za různých podmínek [33]. Mnoho vědců zastává názor, že aklimační deprese fotosyntézy nastává, pokud všechny sinky rostliny vykazují nižší akumulární kapacitu, než odpovídá zvýšené rychlosti produkce asimilátů [34, 35, 36 a další]. Níže jsou uvedeny hypotézy [31, 32], které by mohly vysvětlovat nástup této aklimační deprese fotosyntézy:

#### *I. Přerozdělení nebo snížení koncentrace anorganického fosfátu*

Zde se jedná o limitaci spotřebou triózafosfátů, což jsou primární produkty fotosyntézy. Vyšší rychlost fotosyntézy znamená rostoucí hromadění fosforylovaných meziproductů Calvinova cyklu vedoucí k přerozdělení anorganického fosfátu ( $P_i$ ) mezi vnitřním prostorem chloroplastů a cytosolem. Právě toto snížení je limitujícím faktorem tvorby adenosin trifosfátu (ATP), který je nutnou součástí Calvinova cyklu. Dále bylo také zjištěno, že tento nižší obsah  $P_i$  a ATP může limitovat aktivitu enzymu RUBISCO-aktivázy, což vede ke zpomalení aktivace enzymu RUBISCO, jež je indukovaná světlem u rostlin rostoucích právě v podmínkách zvýšené koncentrace  $CO_2$ .

#### *II. Snížení obsahu nebo aktivity enzymu RUBISCO*

Při různých zkoumáních bylo pozorováno snížení rychlosti asimilace  $CO_2$  v důsledku snížení karboxylační aktivity enzymu RUBISCO. Také bylo prokázáno, že při dlouhodobém vystavení rostliny vysoké koncentraci  $CO_2$  dojde ke snížení množství i aktivity enzymu RUBISCO in vitro [37]. Další možností příčiny poklesu aktivity tohoto enzymu je potlačení genové exprese pro přepis genů enzymu RUBISCO. Tato regulace je zpětnovazebná a podílí se na ní nestrukturní sacharidy přítomné v listech, ponejvíce glukóza a sacharóza. Třetím principem je snížení aktivity enzymu karbonátdehydratázy, což je také výsledkem potlačení genové exprese. Tato karbonátdehydratáza katalyzuje rovnováhu mezi  $HCO_3^-$  a  $CO_2$  ve stromatu chloroplastů, což napomáhá koloběhu  $CO_2$  v těle rostliny do potřebných míst. Tedy u rostlin vystavených atmosféře se zvýšenou koncentrací  $CO_2$  dochází k nárůstu intercelulární limitace difuze  $CO_2$ , čímž se nepřímě snižuje aktivita RUBISCO v důsledku nedostatečné karbamylace.

Košvancová a kol. [38] zkoumali vliv koncentrace  $CO_2$  na smrk ztepilý a buk lesní, bylo zjištěno, že při krátkodobém vystavení vyšší hladině oxidu uhličitého došlo k významnému nárůstu koncentrace RUBISCO v listech stromů, ovšem aktivita tohoto enzymu vzrostla jen nepatrně. Tento fakt zapříčiní pokles tzv. specifické aktivity RUBISCO. Tato aktivita je definována jako poměr mezi aktivitou a množstvím enzymu a udává aktivitu jednotkového množství RUBISCO. Pokles specifické aktivity vykazuje přítomnost velkého množství neaktivního enzymu RUBISCO v listech, které se karboxylace neúčastní. V této situaci dochází k inhibici oxygenační aktivity enzymu, jinými slovy fotorespirace. V kontrastu s krátkodobým působením dojde při dlouhodobé, týdenní až roční, expozici stromů vyšší koncentraci  $CO_2$  k nárůstu specifické aktivity. Tento nárůst je způsoben vytěsněním inhibitorů, například D-xylulóza-1,5-bisfosfátu nebo 3-keto-D-arabinitol-1,5-bisfosfátu, z aktivních míst enzymu.

#### *III. Mechanické poškození tylakoidů v důsledku nadměrné akumulace škrobu*

Zásadním enzymem transportu asimilátů v rostlinách je translokátor fosfátu (TPT). Tento translokátor pracuje jako antiport s  $PO_4^{3-}$ , a při jeho nedostatku a velkého množství uhlíku se tříuhlíkaté zbytky hromadí ve stromatu jako škrob. V této situaci dochází ke stínění světloběrných komplexů a reakčních center tylakoidu velkými škrobovými zrny, čímž se snižuje aktivita zachytu slunečního světla nebo dojde až k poškození membrán tylakoidu. Celá řada odborníků [39, 40] s tímto mechanismem aklimační deprese tak úplně nesouhlasí a považuje jej za extrémní. Tvrdí, že zvýšená produkce škrobu chrání rostlinu před snižováním exprese genů a slouží k vytváření zásobních látek.

#### *IV. Inhibování transkripce genů*

Jak bylo řečeno výše, nárůst hromadění sacharidů v rostlině způsobuje pokles genové exprese proteinů, které se na karboxylaci podílejí nebo těch, které se účastní transportu přes tylakoidní membránu. Na druhou stranu byl zjištěn zvýšený počet genů, které kódují ADP-glukózapyrofosforylázu (AGPázu), což je enzym katalyzující biosyntézu škrobu. Z těchto faktů vyplývá, že u rostlin rostoucích při zvýšené koncentraci CO<sub>2</sub> je potlačena exprese genů, jež se účastní tvorby sacharidů, a naopak genová exprese enzymů pro zužitkování rostlin bývá zvýšena.

#### *V. Úroveň minerální výživy, efekt dusíku*

Úroveň minerální výživy, obzvláště dusíkem je důležitým faktorem vzniku a intenzity aklimační deprese fotosyntézy při ovlivnění vysokou koncentrací CO<sub>2</sub> [41]. Z pěstování rostlin při různých podmínkách výživy bylo zjištěno, že nedostatek dusíku aklimační depresi fotosyntézy prohlubují, a také, že stres vyvolaný hladověním kladný vliv zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> plně eliminuje.

Též bylo studii dokázáno, že růst rostlin při zvýšené koncentraci CO<sub>2</sub> zapříčiňuje pokles obsahu dusíku v listech, anebo tzv. zředovací efekt, kdy zůstává stejné množství dusíku, které ovšem připadá na více biomasy [29]. Vztah mezi redukcí dusíku a aktivitou fotosyntetických enzymů je jasný, vzhledem k faktu, že RUBISCO obsahuje 25 – 50 % dusíku z listů. Díky nízkému obsahu enzymu RUBISCO se ustaví nová rovnováha mezi limitacemi fotosyntetických reakcí, zde se jedná o limitaci aktivitou RUBISCO a regenerací RuBP. Enzym RUBISCO uvolňuje dusík ve prospěch jiných enzymů, dochází tedy k přerozdělení dusíku. Světlem saturovaná rychlost asimilace CO<sub>2</sub>, která je limitovaná karboxylační aktivitou RUBISCO, je funkcí obsahu dusíku. Negativním důsledkem sníženého množství dusíku v listech může být pokles syntézy chlorofylů.

#### *VI. Změny ve struktuře světlosběrných komplexů*

Aklimační deprese fotosyntézy může též zapříčiňovat pokles obsahu chlorofylů i karotenoidů, například u smrku ztepilého tento pokles činil až 45 %. Ovšem na druhou stranu byl pozorován nárůst poměru chlorofylu a/b o 5 %, větší množství inaktivních reakčních center fotosystému II a světlosběrné komplexy se stávají menšími. Toto zmenšení, popřípadě rozpad, souvisí s potlačením fotorespirace, ta má totiž, hlavně při vysoké ozáření a teplotách, funkci zhášecí excitací, které mohou zapříčiňovat degradaci proteinů. Fotorespirace má tedy i ochrannou funkci.

#### *VII. Změny poměru zdroj/úložiště CO<sub>2</sub> v rostlinách*

U rostlin pěstovaných v podmínkách zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> se během dnů až týdnů stávají reakce fotosyntézy a růst závislími na schopnostech rostlin tvořit nová uhlíková úložiště nebo zvětšovat kapacitu těch stávajících. Příkladem těchto úložišť mohou být sekundární letorosty nebo například zvětšování listové plochy. Pokud nastane situace, kdy chybí takovéto aktivní úložiště, dojde k prohloubení a urychlení aklimační deprese fotosyntézy.

Nejčastěji se v tomto ohledu vychází z modelu aklimace fotosyntézy [42], jenž vychází z předpokladu řízení fotosyntetické kapacity poměrem biochemických a morfologických změn. Mezi změny biochemické povahy se řadí hlavně fixace CO<sub>2</sub> enzymem RUBISCO a regenerace RuBP a triózafosfátů, mezi ty morfologické pak rychlost vbudování sacharidů do buněk, nárůst šířky listů a další. Pokud nastane situace, kdy jsou biochemické změny větší, dojde právě k aklimační depresi fotosyntézy. Nastane-li opačná situace, budou asimilační procesy podporovány zvýšenou koncentrací CO<sub>2</sub>.

### 2.3.2 Fotorespirace

Podstatou fotorespirace neboli glykolátové cesty je již zmiňovaná oxygenázová aktivita enzymu RUBISCO. Během tohoto cyklu se uvolňuje  $\text{CO}_2$  spolu s  $\text{NH}_3$  a spotřebovává ATP s redukčními činidly NADPH. Jak již bylo řečeno v předchozí podkapitole má fotorespirace ochrannou funkci před fotoinhibičním poškozením, i přestože zapříčiňuje pokles výtěžku asimilačních reakcí. Další významnou funkcí tohoto metabolismu je produkce výchozích látek pro syntézu sloučenin, jež se účastní stresových reakcí. Příkladem takové látky je glycin využívaný k syntéze glutationu.

Již bylo uvedeno výše, že účinek zvýšené koncentrace  $\text{CO}_2$  na asimilaci je dán soutěžením  $\text{CO}_2$  a  $\text{O}_2$  o navázání se na aktivní místo enzymu RUBISCO. V atmosféře s podmínkami zvýšené koncentrace  $\text{CO}_2$  je větší pravděpodobnost navázání se  $\text{CO}_2$ , a touto reakcí dochází k útlumu oxygenační aktivity. Tímto dochází k nárůstu dostupnosti ATP a NADPH, což jednak stimuluje fotosyntézu, ale lze je využít i k transportu jejích produktů, čímž dojde k potlačení zpětnovazebné limitace asimilace. Marek a kol. [43] zjistili, že zpomalení fotorespirace u smrku ztepilého a buku lesního v podmínkách dvojnásobné koncentrace  $\text{CO}_2$  činilo 40 – 65 %.

### 2.3.3 Respirace

Rychlost respirace je ve srovnání s rychlostí fotosyntézy relativně malá, odpovídá asi 10 % úbytku uhlíku vytvořeného současně probíhající fotosyntézou. Je zřejmé, že dýchání neprobíhá pouze ve dne, ale i v noci, kdy je rychlost fotosyntézy nulová. Během růstu rostliny se zvyšuje množství nefotosyntetizujících složek, jež se účastní udržovacího dýchání, tímto dosáhneme až 50 % ztrát uhlíku, získaného fotosyntézou, dýcháním. Respirací dochází k rozkladu fotosyntetických produktů, ale současně i ke tvorbě důležitých látek, jako jsou ATP a NADPH, které jsou nenahraditelnými součástmi metabolismů. Proto se největší váha přikládá dýchání růstovému, poté udržovacímu dýchání a transportní složce dýchání [10].

Gonzales-Meler a Siedow [44] zjistili, že u rostlin pěstovaných v podmínkách s koncentrací  $\text{CO}_2$  okolo  $700 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$  dochází k inhibici mitochondriální respirace z 15 – 20 %. Naopak u některých obilovin byl detekován až 20 % nárůst respirace. Tyto rozdíly v projevech zvýšené koncentrace  $\text{CO}_2$  jsou závislé na mnoha faktorech, například na změnách nestrukturních sacharidů, na biomase rostlin, na interakci  $\text{CO}_2$  a enzymu u dýchacího řetězce a dalších. Mechanismus této inhibice ještě není přesně znám. Jako jedním z možných řešení se jeví snížení aktivity cytochrom c-oxidázy, což obnáší redukci přenosu elektronů v dýchacím řetězci nebo inhibici enzymů Krebsova cyklu.

Při sledování respirace smrku ztepilého Markem a kol. [10] byla zjištěna následující fakta. V podmínkách dvojnásobné koncentrace oxidu na počátku sezony ( $700 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) došlo k nárůstu temnotní respirace listů ve srovnání s podmínkami koncentrace normální ( $390 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ ). Rozdíl odpovídal 35 % a byl zapříčiněn vyšším obsahem asimilátů. Pokud byla rostlina vystavena dlouhodobému působení zvýšené hladiny  $\text{CO}_2$  na konci vegetační sezony došlo ke zpomalení temnotní respirace listů oproti koncentraci normální. Tato změna byla nejspíše způsobena zpětnovazebnými limitacemi.

Nejvýznamnější rozdíly v odezvách na podmínky kultivace byly zjištěny na úrovni koeficientu  $Q_{10}$ , jež vyjadřuje změnu respirace při změně teploty o  $10^\circ\text{C}$ . Tento koeficient činil v podmínkách přirozené koncentrace  $1,6 \pm 0,3$ , a u stromů rostoucích v podmínkách zvýšené koncentrace byl  $2,6 \pm 0,5$ . Tato vyšší

hodnota odpovídá vyšší citlivosti respiračních procesů při vyšších teplotách, a též vykazuje fakt, že tyto stromy lze považovat za vyšší zdroje CO<sub>2</sub> při vzrůstu teploty ve srovnání se stromy rostoucími při přirozené hladině CO<sub>2</sub> v atmosféře.

Některými stanoveními byla též zjištěna vyšší aktivita kořenů rostoucích v podmínkách zvýšené koncentrace [45]. Tento nárůst byl nejspíše způsoben zvýšeným obsahem asimilátů z nadzemní biomasy. U některých dřevin se Jarvis [30] setkal s případy, že jen polovina těchto asimilátů byla využita pro výživu nadzemní biomasy, a zbytek byl využit ke tvorbě jemných kořenů. Díky tomuto zjištění je kořenový systém považován za důležité skladiště asimilátů, ovlivňující aklimační depresi fotosyntézy.

### 2.3.4 Vodivost průduchů

Průduchy reagují na nárůst hladiny CO<sub>2</sub> přivřením a poklesem průduchové vodivosti. Vyskytují se názory, že se štěrbin uzavírá díky nárůstu obsahu zeaxantinu ve svěracích buňkách průduchů. Také dojde ke zvýšenému ukládání sacharózy v apoplastu těchto svěracích buněk. Sacharóza je regulátorem funkčnosti, a tím ovlivňuje vodivost průduchů. Toto hromadění sacharózy způsobuje pomalejší otevírání průduchů, u rostlin adaptovaných na tmou při vyšším slunečním ozáření [38].

Z dostupných prací lze říci, že pokles vodivosti u rostlin pěstovaných při zvýšeném obsahu CO<sub>2</sub> v atmosféře je různý v závislosti na rostlinném druhu a kultivačních podmínkách, ovšem ve všeobecnosti činí 20 – 60 %. Kultivace rostlin při zvýšené hladině oxidu uhličitého má za důsledek i snížení hustoty průduchů, snížení citlivosti průduchů k vodnímu sytostnímu deficitu, snížení citlivosti vodivosti ke stresu suchem i ke snížené reaktivitě na změny koncentrace CO<sub>2</sub> [46]. Snížením hustoty průduchů jako důsledku zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> se zabývalo mnoho vědců, například Peñuelas a Matamaly [47] zkoumali tento efekt u rostlin z herbářů. Výsledkem bylo zjištění, že hustota průduchů byla v polovině 18. století byla o 21 % vyšší než v současnosti. Taktéž bylo zjištěno, že hlavním důvodem snížené vodivosti těchto štěrbin je jejich zmenšení, způsobené uzavíráním díky vyšší intercelulární koncentraci CO<sub>2</sub> [43].

## 2.4 Vliv zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> na kvalitu pšeničného zrna

Technologická jakost pšenice obecné (*Triticum aestivum*) je determinovaná geneticky, ovšem v našem nepříliš stabilním evropském klimatu je rovněž velice ovlivněna počasím a také zemědělskými opatřeními, jako je například minerální výživa a také ochrana rostlin. Technologická jakost je pojem zvyšující užitnou hodnotu zrna obiloviny a toto zrna předurčuje pro směry průmyslového zpracování. Tato jakost se nejvíce odvíjí od chemického složení, poměru daných složek zrna a činnosti enzymů.

### 2.4.1 Složení pšeničného zrna

#### 2.4.1.1 Bílkovinný komplex

V potravinářském průmyslu hraje z pohledu jakosti zrna největší význam bílkovinný komplex, jenž je tvořen albuminy a globuliny (20 %), které mají hlavně metabolickou funkci, a lepkovými bílkoviny. Tyto bílkoviny tvoří asi ¾ celkového obsahu bílkovin a během hydratace a přípravy těsta dávají za vznik lepkovému komplexu, jenž má, kvůli svým viskoelastickým vlastnostem, významnou roli v technologické jakosti pšeničného zrna. Tyto prolaminové bílkoviny tvoří homogenní chemickou sloučeninu, nýbrž

složité komplex frakcí bílkovin o odlišném aminokyselinovém složení, kde jsou nejvíce zastoupeny aminokyseliny glutamin a prolin [48], a tím pádem i o různé terciární a kvartérní strukturu.

Jednotlivé bílkovinné frakce je od sebe možno oddělit pomocí různých metod, nejstarší metodou je Osbornova metoda, která je založena na rozpustnosti těchto frakcí v různých roztocích. Frakce rozpustná ve zředěných alkoholických roztocích (ethanol, propanol) je označována jako gliadin. Gliadin se skládá z monomerních polypeptidů s molekulární hmotností 30 – 50 kDa a v závislosti od elektroforetické pohyblivosti se dělí na  $\alpha/\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\omega 5$  nebo  $\omega 1,2$ -typy.  $\omega$ -gliadiny se vyznačují nejvyšším obsahem glutaminu, prolinu a fenylalaninu, jež dohromady činí 80 % z celkového aminokyselinového zastoupení. Pokud srovnáme  $\omega$ -gliadiny, zjistíme, že  $\omega 5$ -gliadiny mají vyšší molekulovou hmotnost (50 kDa) než  $\omega 1,2$ -gliadiny, jež mají hmotnost okolo 40 kDa. Většina těchto  $\omega$ -gliadinů má nedostatek nebo postrádá cystein, tudíž zde není možnost tvorby disulfidických můstků. Celkově gliadin vykazuje nízkou elasticitu a menší soudržnost než glutenin, a tak hlavně přispívá k viskozitě lepku [49].

Frakce rozpustná ve slabě koncentrovaných kyselinách, jako je například kyselina octová, nebo zásadách bývá označována jako glutenin. Dále pak je tu třetí frakce, a to nerozpustný zbytek. Glutenin spolu s nerozpustným zbytkem jsou tvořeny polymerními řetězci bílkovin, jež dosahují molekulární hmotnosti v řádu milionů daltonů, a tím patří glutenin k vůbec nejdelším přírodním proteinům. Tyto řetězce se po styku s redukčními činidly štěpí na vysokomolekulární (HMW) s molekulární hmotností kolem 70 - 80 kDa a nízkomolekulární (LMW) podjednotky o hmotnosti okolo 33 kDa. Tyto podjednotky spolu s nízkomolekulární frakcí vytvářejí různé alelické kombinace, a jejich přítomnost výrazně ovlivňuje technologickou jakost zrna.

Gliadiny spolu s gluteniny obsahují i sirmé cysteinové zbytky, tudíž je možné je dělit do tří skupin i z tohoto hlediska.

- na síru bohaté prolaminy (alfa, beta, gama gliadiny a LMW podjednotky gluteninů)
- na síru chudé prolaminy (omega gliadiny)
- HMW podjednotky gluteninů

Aminokyseliny obsahující síru jsou schopny vytvářet disulfidické můstky mezi jednotlivými skupinami gluteninových podjednotek. Právě tyto vazby jsou místem, kde se odehrávají redoxní reakce, jež se odehrávají během procesu zrání až po pečení těsta. V průběhu pečení dochází k následujícím reakcím. Nejprve dochází k oxidacím volných SH- skupin podporujících polymerizaci, poté dojde k terminaci této polymerace a nakonec dojde k výměně SH-/SS- skupin mezi gluteniny a thiolovými sloučeninami, což vede k depolymerizaci [50].

Ve zralém pšeničném zrně poté tvoří rozvětvené a lineární vysokopolymerní řetězce tvořené z podjednotek HMW a LMW spolu s gliadiny a lipidy matrix, jež vyplňuje prostor mezi zrnami škrobu v endospermu zrna.

### **2.4.1.2 Sacharidy**

Pšeničné zrně obsahuje asi 80 % sacharidů z celkové hmotnosti suchého zrna. Ze všech tří známých skupin sacharidů, jsou nejvíce zastoupeny polysacharidy. Zrně v největším množství obsahuje škrob spolu s celulózą, dále se zde pak nachází hemicelulóza, pentózany a  $\beta$ -glukany. Celulóza je v největším množství obsažena v obalových vrstvách zrna, okolo 30 % z celkového množství. Naopak v endospermu se nachází pouze 0,3 % celulózy, zatímco škrob je zde zastoupen v největším množství.



Obsah škrobu v pšeničném zrně se pohybuje v rozmezí 63 – 72 %, v závislosti od obsahu bílkovin v zrně, jelikož mezi obsahem škrobu a bílkovin platí nepřímá úměrnost. V tomto směru máme dva typy pšenice, a to tzv. soft pšenici, jež má měkkou texturu a vysoký obsah škrobu. Opačným případem je tzv. hard pšenice.

V zrně endospermu je škrob uložen ve formě granulí o dvou různých velikostech. Tzv. typ A (okolo 3 %) tvoří velké granule čočkovitého tvaru a vytváří 50 – 75 % hmotnosti veškerého škrobu zrna. Naproti tomu malé, sférické granule se označují jako typ B.

#### **2.4.2 Metody hodnocení kvality pšeničného zrna**

Zjištění kvality zrna je důležité pro technologické zpracování a následně posouzení kvality mouky. K hodnocení kvality pšenice se užívá různých metod [51]. Jednou z orientačních metod je zjištění objemové hmotnosti, což je poměr hmotnosti dané obiloviny k objemu, který zaujme po volném nasypání do nádoby za přesně stanovených podmínek. Užívá se k orientačnímu zjištění výtěžnosti mouky při mlýnském zpracování, a výsledek je udáván v  $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Další metodou ke zjištění výtěžnosti mouky je metoda hmotnosti tisíce zrn, jež je funkcí tvaru a hustoty zrna. Počítá se zde s faktem, že velké zrně s velkou hustotou má větší poměr endospermu k ostatním částem pšeničného zrna. Tato hmotnost bývá udávána v gramech.

Dále se zjišťuje obsah hrubé bílkoviny v zrně, tento údaj je velice důležitým technologickým faktorem díky svému vysokému kladnému korelačnímu vztahu k objemu pečiva. Obsah bílkovin může dosti kolísat v závislosti na změnách klimatu, podmínkách pěstování a hnojení. Jednou z používaných metod ke zjištění celkového obsahu bílkovin je Kjeldahlova metoda (obr. 3 a 4). Její podstatou je převedení většiny dusíkatých látek (s výjimkou dusíku obsaženého v derivátech pyridinu, chinolinu, triazolu atd., dusičnany, dusitany, nitro- a nitrosoloučeniny lze stanovit až po redukci), v zrně obsažených, mineralizací s kyselinou sírovou za přídavku katalyzátoru na anorganickou formu síranu amonného. Z tohoto síranu se následně v alkalickém prostředí uvolní amoniak, který se predestiluje s vodní parou a stanoví titračně. Celkový obsah bílkoviny se poté zjistí pomocí přepočítávacího faktoru, který je pro pšenici stanoven na hodnotu 5,7. Výsledky jsou udávány v procentech. Dále je pro stanovení bílkovin možno použít i nechemických metod, jako jsou například NIR (reflektance v blízké části infračerveného spektra) a NIT (transmitance v blízké části infračerveného spektra), a také je možno užít spalovací metody podle Dumase. U poslední jmenované metody je nutno provést kalibraci na standardní Kjeldahlovu metodu.



Obr. 3: Mineralizace vzorků



Obr. 4: Aparatura na stanovení dle Kjeldahla

Dále se u pšeničného zrna zjišťuje obsah mokrého lepku (obr. 5) vypíráním vytvořeného těsta vodou nebo roztokem NaCl, a to buď ručně, nebo také pomocí různých přístrojů. Tato stanovení bývají méně přesná a výsledky jsou udávány v procentech.

Ke zjištění kvality lepku [51] se užívá sedimentačního testu. Sedimentace je genotypovou vlastností, a má vysoký kladný korelační koeficient k objemu pečiva a obsahu hrubé bílkoviny pšeničného zrna. Na základě výsledků tohoto testu je možno vyselektovat ty odrůdy, jež by měly nízkou pekárenskou jakost. V podstatě existují dva typy sedimentačních testů, a to Zelenyho a SDS test. Zelenyho sedimentační test je založen na schopnosti bílkovin mouky bobtnat v kyselém prostředí. Ze vzorku mouky, která byla připravena za předem stanovených podmínek, se připraví suspenze v roztoku kyseliny mléčné

a isopropanolu s přídavkem barviva. Po stanovené době protřepávání a klidu se odečte objem sedimentu vzniklého sedimentací částic mouky, tento objem je ukazatelem kvality lepkové bílkoviny. Co se týče, SDS sedimentačního testu, je zde používán pšeničný šrot a jako činidlo se používá roztok dodecylsulfátu sodného v kyselině octové. Hodnotou pro vyřazení nekvalitní pšenice je hodnota testu 47 ml. Jak vyplývá z předchozí věty, výsledky jsou zaznamenávány v mililitrech.



Obr. 5: Mokrý lepek získaný ručním vypíráním

Dalším ukazatelem sledovaným u pšeničných zrn je tzv. skrytá porostlost zrna v klase, stanovovaná metodou čísla poklesu. Toto porůstání je nežádoucím jevem, v konečném důsledku totiž vede ke snížení objemu upečeného pečiva a také k nevhodné pórovitosti střídky, těsto bývá také neobyčejně lepivé. Tyto důsledky jsou způsobeny zvýšenou aktivitou hydrolytických enzymů, jako například amylázy, proteinázy, peptidázy a dalších, které jsou syntetizovány v zrnech během zralosti, pokud se pšenice dostane do nevhodných podmínek s deštěm. Tyto enzymy pak během pečení při teplotách okolo 600 °C způsobují štěpení škrobu a bílkovin na nižší struktury, čímž se poškozuje technologická jakost pekárenských výrobků. Pšenice mají geneticky danou odolnost proti předčasné tvorbě těchto enzymů a dle této odolnosti jsou děleny do tří skupin:

- odrůdy se silnou náchylností k porůstání – v případě dešťů je u těchto odrůd v období sklizně riziko porůstání zrna 100 %
- odrůdy se střední odolností proti porůstání – u takovýchto odrůd je při „mokrých“ sklizni na základě viskózního testu rozhodováno o včasnějších sklizních
- odrůdy se silnou odolností proti porůstání – zde je i v případě „mokrých“ sklizni minimální pravděpodobnost porostu a není nutno sklízet dříve

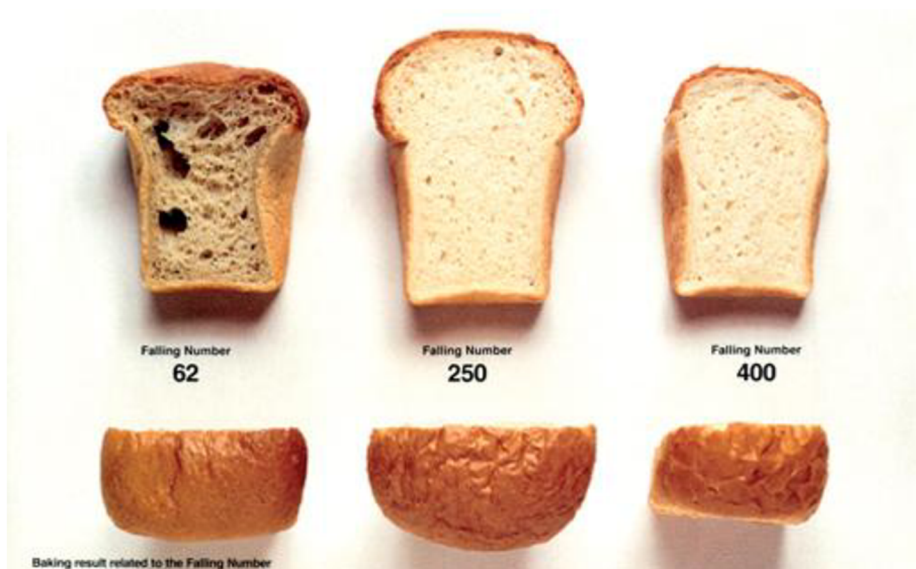
Rezistenci vůči porůstání tedy neovlivňuje jen genetika, ale i podmínky vlhkosti po celou dobu růstu až do sklizně pšenice.

Pro zjištění tohoto ukazatele se používají přístroje Falling Number (obr. 6). Stanovení slouží ke zjištění aktivity  $\alpha$ -amylázy u obilovin a je založeno na schopnosti vodní suspenze mouky rychle zmazovatět ve vroucí vodní lázni a na měření ztekucení škrobu, ke kterému dochází působením  $\alpha$ -amylázy přítomné ve vzorku. Ztekucení ovlivňuje odpor škrobového gelu vůči viskozimetrickému míchadlu a čas, potřebný k poklesu míchadla o určenou vzdálenost. Výsledky jsou uváděny v sekundách. Nejnižší možnou hodnotou, při které je ještě možno zrno v potravinářském průmyslu použít je 160 sekund. U zrn s nižšími výsledky (obr. 7) jsou zásobní látky již nevratně poškozeny. Závislost mezi porostlostí a hodnotou viskózního testu je hyperbolická, tudíž již malé množství zrna s vysokou aktivitou hydrolytických enzymů

razantně sníží hodnotu viskotestu. Nejlepších vlastností pšeničné zrna nabývá, pokud dosahuje hodnot 200 – 300 sekund. Při času delším než 300 sekund je nutno zvýšit aktivitu amyláz přidávkem sladové moučky.



Obr. 6: Přístroj na stanovení čísla poklesu s třepačkou [52]



Obr. 3: Ukázka kvality pečiva dle hodnoty čísla poklesu [53]

Nejdůležitějším testem na zjištění technologické jakosti pšenice je pekařský pokus. Tyto testy jsou v různých modifikacích, v České republice se nejvíce používá metoda pokusného pečení, tzv. Rapid-Mix-Test. Výsledek tohoto stanovení je rozhodujícím faktorem při třídění odrůd pšenice do tříd jakosti. Toto pokusné pečení probíhá za standardních podmínek a intenzivního hnětení, poté se nějakou dobu nechá těsto odležet a nakonec se strojově vytvarují klonky, které se upečou. Výsledky se uvádí jako objemová výtěžnost v mililitrech na 100 gramů mouky. Během tohoto testu se většinou zařazuje i sensorické a vizuální hodnocení těsta i výrobku.

V tabulkách níže jsou uvedeny charakteristiky jednotlivých kategorií technologické kvality pšenice (Tab. 2). Detailněji odlišuje jednotlivé kategorie ÚKZÚZ (Tab. 3), který v současné době rozlišuje 4 jakostní kategorie (E - elitní, A – kvalitní, B – chlebová a C – nevhodná pro výrobu kynutých těst).

Tab. 2: Technologické požadavky pro potravinářskou pšenicí dle normy ČSN 46 1100-2 [54]

Jakostní znaky	Využití: pekárenské	Využití: pečivářské
Vlhkost (%)	Nejvýše 14,0	Nejvýše 14,0
Objemová hmotnost ( $\text{kg} \cdot \text{hl}^{-1}$ )	Nejméně 76,0	Nejméně 76,0
Obsah N-látek (%)	Nejméně 11,5	Nejvýše 11,5
Zeleného sedimentační index (ml)	Nejméně 30,0	Nejvýše 25,0
Číslo poklesu (s)	Nejméně 220	Nejméně 220

Tab. 3: Minimální požadavky na zařazení odrůd pšenice do skupin jakosti [55]

Jakostní skupina	E - elitní		A - kvalitní		B – chlebová	
Vyjádření hodnoty	Absolutně – bod (9 – 1)		Absolutně – bod (9 – 1)		Absolutně – bod (9 – 1)	
Objemová hmotnost ( $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ )	790	7	780	6	760	4
Objemová výtěžnost (ml)	530	8	500	6	470	4
Obsah hrubých bílkovin (%)	12,6	6	11,8	4	11	2
Zeleného sedimentační index (ml)	49	7	35	5	21	3
Číslo poklesu (s)	286	6	226	4	196	3
Vaznost mouky (%)	55,4	7	53,2	5	52,1	4

### 2.4.3 Vliv zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> na kvalitu pšeničného zrna

Jak již bylo řečeno v kapitole předchozí, v budoucnu hrozící vyšší koncentrace oxidu uhličitého v atmosféře se na fyziologických procesech rostlin určitě projeví. V závislosti na době vystavení této vyšší koncentraci jsou změny různého charakteru.

Högy a kol. [56] zkoumali vliv koncentrace CO<sub>2</sub> na kvalitu zrna pšenice jarní (*Triticum aestivum L. av. Triso*) a její výnosy. Výsledkem této studie bylo, že vyšší koncentrace CO<sub>2</sub> neměla žádný důležitý účinek na nadzemní biomasu ani výnosy, kromě menšího nárůstu (5,4 %) u stanovení hmotnosti tisíce zrn, a to z důvodu posunu rozdělení velikosti zrn směrem k větším. Naopak celkový obsah bílkovin poklesl o 7,9 %, a také došlo ke změnám zastoupení proteinů. Vlivem vyšší koncentrace CO<sub>2</sub> také došlo k poklesu obsahu gliadinů i jejich jednotlivých typů, ovšem beze změn zůstaly jak albuminy a globuliny, tak i gluteniny s jejich podjednotkami. Obsah celkového lepku byl snížen o 11,3 % ve vyšších koncentracích CO<sub>2</sub>. Zajímavé bylo i složení proteinů, které zůstalo nezměněno, až na mírný pokles obsahu serinu. Ovlivněny byly i hladiny minerálů, pokles byl zaznamenán u vápníku, hořčíku, železa i kobaltu, naopak nárůst byl detekován u boru. Co se týče, sacharidů, obsah nestrukturálních sacharidů a škrobu poklesl, zatímco podíl fruktózy, rafinózy i fruktanu vzrostl. Poznatky z této studie zavedené



do praxe by mohly mít pozitivní efekt na zemědělské procesy, s ohledem na budoucí klima, lidskou výživu i zdraví.

Högy a kol. [57] zkoumali efekty zvýšené koncentrace  $\text{CO}_2$  ( $550 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$  versus  $380 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) na jarní pšenici ve trojročním experimentu. Účinek se projevil nárůstem nadzemní biomasy o 11,8 % a zvýšením výnosu pšenice o 10,4 %. Ovšem, celkově byl zaznamenán negativní účinek na veškeré kvalitativní znaky pšenice. I když hmotnost tisíce zrn zůstala nezměněna, rozdělení velikostí bylo posunuto směrem k menším rozměrům. Dále bylo zjištěno, že celkový obsah proteinů poklesl o 7,4 % při zvýšené koncentraci  $\text{CO}_2$ , změnilo se i složení aminokyselin i proteinů. Změny aminokyselin se projevíly hlavně v poklesu zastoupení neesenciálních aminokyselin. Dále byl také sledován vliv na obsah nestrukturálních polysacharidů, který poklesl, až na obsah škrobu, který, jakožto nejvýznamnější složka pšenice, zůstal nezměněn. Vzhledem k reologickým vlastnostem mouky, byl sledován i obsah a kvalita lepku, přičemž kvalita lepku výrazně poklesla, konkrétně o 11,7 %.

V některých FACE studiích byl pokles obsahu lepku vysvětlován poklesem jen gliadinů [57], zatímco v jiných, srovnatelných, studiích došlo k poklesu lepku i všech frakcí [58]. V souvislosti s produkcí chleba Wieser a kol. [58] uvádějí, že klesající poměr glutenin:gliadin výrazně ovlivňuje produkci kvalitního chleba. Kimball a kol. [59] zjistili 6 % nárůst potřebného času k ideálnímu vytvoření těsta.

Alonso a kol. [60] se zabývali ovlivněním fotosyntézy pšenice v důsledku růstu ve vyšší koncentraci oxidu uhličitého. Rostliny byly pěstovány při dvou hladinách  $\text{CO}_2$ , a to  $370 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$  a  $700 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ , a výměna plynů byla měřena pomocí senzorů na listech. Vyšší obsah  $\text{CO}_2$  v atmosféře zvýšil úroveň respirace na světle a také aktivitu enzymu RUBISCO. Obohacení atmosféry o  $\text{CO}_2$  také mělo za důsledek inhibici limitace RuBP při vyšších teplotách.

V závislosti na rostoucí koncentraci  $\text{CO}_2$  byl sledován i obsah nutrientů [61]. V zelených listech došlo k poklesu obsahu všech důležitých prvků, kromě fosforu a železa. Na druhé straně v zrnech pšenice došlo k poklesu v obsahu dusíku, vápníku, síry a železa. Také došlo ke snížení výsledků hodnot Zeleného testu, čísla poklesu i obsahu mokrého/suchého lepku.

Fernando a kol. [62] uvádějí, že zvýšená koncentrace  $\text{CO}_2$  ( $550 \pm 10 \% \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) způsobila nárůst hmotnosti tisíce zrn o 8 % a také průměru jednotlivých zrn o 5 %. Dále byla detekována redukce obsahu proteinů, a to o 11 %. Též byl zjištěn pokles množství minerálů v zrně, zatímco se celkový příjem těchto nutrientů na jednotku plochy výsevu zvýšil. Došlo i ke změnám reologických vlastností mouky a změně objemu chleba, ten se zmenšil o 7 %. Zajímavým zjištěním bylo, že se o 17 % snížila koncentrace fytátu, zatímco obsah fruktanu zůstal nedotčen. Celkově došlo ke zlepšení většiny fyzikálních charakteristik zrna, ovšem u nutričních charakteristik jako je například obsah proteinů a minerálních prvků, došlo k poklesu. Například poměr N/S ve vysoké koncentraci  $\text{CO}_2$  se snížil o 6 % z důvodu větší redukce koncentrace dusíku ve srovnání s redukcí obsahu síry.

Piikki a kol. [63] konstatují, že znatelným efektem působení oxidu uhličitého je redukce množství lepku, a to v průměru o 11 % oproti předindustriální době. Jedním z nejdůležitějších parametrů ovlivnění koncentrace lepku je úroveň dusíkatého hnojení. Nejefektivněji se jeví kombinace zvýšené koncentrace  $\text{CO}_2$ , indukující větší výnos, a dusíkatého hnojení k zabránění poklesu koncentrace lepku. Ovšem zvyšující se úroveň hnojení by mohla vést ke zvýšenému uvolňování dusíku z polí.

Další práci pojednávající o tomto tématu publikovali Taub a kol. [64]. Zde byl též dokázán pokles obsahu proteinů při růstu rostliny při vyšších koncentracích CO<sub>2</sub>, a to o 10 – 15 %. Rozsah změn byl markantnější u rostlin, které byly hnojeny méně.

V tabulce 4 je uveden souhrn několika parametrů pšenice pěstované při různých koncentracích CO<sub>2</sub>.

Tab. 4: Charakteristika výnosu pšenice pěstované při normální a zvýšené koncentraci CO<sub>2</sub> [65]

Parametr	Koncentrace CO <sub>2</sub> [ $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ ]	
	374	706
Celková biomasa [ $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ]	2302	2709
Výnos zrna [ $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ]	1009	1206
Sklizňový index	0,437	0,443
Hmotnost sušiny stébla [ $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ]	579	678
Hmotnost sušiny listu [ $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ]	362	409
Počet klasu [ $\text{m}^{-2}$ ]	669	756
Počet obilek v klasu	34,3	35,5
Hmotnost obilky [mg]	40,8	42

#### 2.4.4 Vliv hustoty porostu

Cloux a kol. [66] pozorovali vliv zvýšené hladiny CO<sub>2</sub> na růst pšenice v řídkém (40 rostlin·m<sup>-2</sup>) a hustém (200 rostlin·m<sup>-2</sup>) porostu při normální (330  $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) a zvýšené (660  $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) koncentraci CO<sub>2</sub>. Při pěstování po dobu 40 dnů v klimatizovaných prostorách došlo ke zvýšení produkce sušiny, u řídkého porostu 1,45 krát a u hustšího porostu 1,5 krát. U řídkého porostu pšenice bylo důvodem zvýšení produkce zvýšení asimilace a zvětšení plochy listů, zatímco v hustším porostu byla hlavním faktorem vysoká pokryvnost listů.

#### 2.4.5 Rozdíly mezi kultivary

Taktéž byly pozorovány odlišnosti, v průběhu vývoje a stupněm tvorby odnoží, při pěstování dvou kultivarů pšenice za podmínek regulované teploty a dvou koncentrací CO<sub>2</sub> [67]. Postupem času pěstování docházelo k vyrovnávání reakcí na zvýšenou koncentraci CO<sub>2</sub>, která indukovala intenzivnější tvorbu odnoží, jejímž projevem byla větší hustota porostu, a tím pádem absorpce většího množství fotosynteticky aktivní radiace dopadající na porost.

Manderscheid a Weigel [68] zkoumali vliv oxidu uhličitého na fotosyntézu a růst různě starých kultivarů pšenice obecné. V testech bylo použito šesti odrůd, které se v zemědělství používaly v letech 1890 - 1998. Zvýšená hladina CO<sub>2</sub> nijak neovlivnila rychlost fotosyntézy při saturaci zářivou energií, ani obsah bílkovin nebo chlorofylu v listech, ovšem došlo k nárůstu plochy i hmotnosti čepele posledního listu. Zajímavým poznatkem bylo, že vyšší koncentrace CO<sub>2</sub> působila kladněji na hmotnost sušiny starších odrůd, tento přínos znamenal zvýšení až o 46 %. U novějších odrůd pšenice byl tento nárůst pouze 28 %. Manderscheid a Weigel [68] tyto pozitivní účinky připisují hlavně zvýšené rychlosti fotosyntézy, zvýšenému odnožování a vyššímu počtu i hmotnosti obilek v pšeničném klasu. Na druhé straně ale stojí

Wheeler a kol. [69] s tvrzením, že za vyšší výnosy obilí může zvýšená rychlost akumulace sušiny v obilkách, a to v průměru o 8,0 mg za den.

V roce 1995 byla Habaschem a kol. [70] publikována práce zabývající se příčinami zvýšené produkce pšenice. Autoři uvádějí, že je to vlivem nárůstu karboxylační aktivity enzymu RUBISCO, rychlosti transportu elektronů i poklesu rychlosti fotorespirace.

Zajímavá studie byla uveřejněna v roce 1998 Rogersem a kol. [71]. Tématem zájmu bylo sledování změn v pšenici rostoucí při třech různých koncentracích CO<sub>2</sub>, a to při „předindustriální“ (280 μmol·mol<sup>-1</sup>), normální (350 μmol·mol<sup>-1</sup>) a extrémní (900 μmol·mol<sup>-1</sup>) koncentraci. Byly sledovány dvě odrůdy pšenice, a to Hartog a Rosella. U odrůdy Hartog došlo k razantnímu zvýšení výnosu při rostoucích koncentracích CO<sub>2</sub>, a to o 38 % a 25 %, naopak u odrůdy Rosella nebyla zaznamenána změna. Při nárůstu koncentrace CO<sub>2</sub> docházelo k poklesu obsahu proteinu u obou odrůd, přičemž nejvyšší byl efekt přechodu z nejnižší koncentrace na koncentraci normální. Ale je nutno poznamenat, že u odrůdy Rosella nedošlo k žádnému pohybu při nárůstu koncentrace z normální hladiny CO<sub>2</sub> na koncentraci nejvyšší.

### 2.4.3 Vliv minerálních živin

Produkce sušiny rostlinami je závislá na úrovni výživy mineráliemi. Monje a Bugbee [72] pozorovali během svého studia pšenice fotosyntetické charakteristiky porostu rostlin, jež byly pěstované za podmínek koncentrace CO<sub>2</sub> 330 μmol·mol<sup>-1</sup> a 1200 μmol·mol<sup>-1</sup>. Rostliny byly dobře živěny a ve výsledku byl prokázán pozitivní účinek na kvantový výtěžek porostu a také byl vyšší výnos zrna, a to o 13 % u rostlin rostoucích ve vyšší koncentraci CO<sub>2</sub>. Závěrem této studie bylo zjištěno, že při optimálních podmínkách vegetace vyšší koncentrace oxidu zvětšuje sílu sinku, což se projevuje vyšší rychlostí fotosyntézy. Z tohoto tvrzení vyplývá, že pokud má rostlina dostatečně velký sink, neprojeví se limitace v důsledku zpětnovazebné inhibice.

Smart a kol. [73], prokázali vliv obsahu nitrátů a koncentrace CO<sub>2</sub> na obsah jednotlivých frakcí dusíku. Dále byl Wolfem [74] prokázán vliv zásobení N, P a K na nárůst hmotnosti sušiny nadzemních orgánů. Nárůst hmotnosti sušiny byl opravdu markantní, dosahoval i 70 %. Naopak nedostatek dusíku se projevil snížením kladného efektu zvýšení koncentrace CO<sub>2</sub>. Také byl pozorován pokles obsahu dané živiny právě při vyšší koncentraci CO<sub>2</sub>, tento pokles měl výrazně vyšší efekt u obilí pšenice než u ostatních částí klasu. Tento fakt tedy jen potvrdil předpoklad, že vyšší koncentrace CO<sub>2</sub> způsobuje snížení obsahu minerálních živin u rostlin.

Wieser a kol. [58] sledovali vliv zvýšené hladiny CO<sub>2</sub> na obsah proteinů v pšeničném zrně. Pěstovali ozimou pšenici (*Triticum aestivum* L. av. Batis) při koncentracích CO<sub>2</sub> 385 μmol·mol<sup>-1</sup> a 550 μmol·mol<sup>-1</sup>, a také při dvou různých režimech hnojení dusíkem, a to normální dávkou N100 a poloviční dávkou N50. Po uzrání byla zrna tradičně zpracována a analyzována pomocí HPLC na obsah hrubé bílkoviny, a také byl zkoumán lepek, Osbornovy frakce a makropolymery. U vzorků pěstovaných při zvýšené koncentraci CO<sub>2</sub> došlo k významnému poklesu obsahu veškerých proteinových frakcí kromě metabolických proteinů. Tento pokles byl více markantní u pšenice, která byla hnojena normální dávkou dusíkatého hnojiva. U obsahu hrubé bílkoviny došlo k poklesu o 14 % při normálním hnojení a o 9 % při hnojení sníženém, u gliadinů rozdíl činil 20 % (N100) a 13 % (N50), obsah gluteninů poklesl o 15 % při obou variantách a změna u gluteninových makromolekul činila 19 % (N100) a 16 % (N50). I u jednotlivých typů gliadinů



došlo k poklesům, u  $\omega$ 5- a  $\omega$ 1,2-gliadinů byl pokles o něco významnější než u  $\alpha$ - a  $\gamma$ -gliadinů. Z těchto údajů vyplývá, že mouka z pšenice pěstované při vyšších koncentracích  $\text{CO}_2$  bude mít nižší technologickou jakost než mouka z pšenice "normální".

Podobnou studii provedli i Erbs a kol. [75]. Výsledky byly následující: obsah hrubé bílkoviny vlivem zvýšené koncentrace  $\text{CO}_2$  poklesl o 4 – 13 %, snížená dusíkatá výživa zapříčinila pokles obsahu hrubé bílkoviny o 14 – 22 %, naopak obsah škrobu díky snížené dusíkaté výživě vzrostl o 4 %. Vyšší hladina  $\text{CO}_2$  společně s nižší dusíkatou výživou zapříčinila pokles aktivity  $\beta$ -amylázy o 11 %.

V roce 2000 byla publikována studie Kimballa a kol. [59] zabývající se vlivem zvýšené hladiny  $\text{CO}_2$ , sucha a dusíkatého hnojení na kvalitu pšenice. Při suchých podmínkách došlo k velmi mírnému zlepšení kvality zrna, konkrétně došlo k nárůstu obsahu proteinů o 2 % a ke zvýšení objemu bochníku chleba o 3 %. V kontrastu s tímto tvrzením, nízká úroveň dusíkatého hnojení snížila kvalitu zrna významně. Množství proteinu bylo sníženo o 36 % a objem chleba poklesl též, a to o 26 %. Při podmínkách dostatku vody, dusíkaté výživy a zvýšené koncentraci  $\text{CO}_2$  došlo jen k mírnému snížení kvality zrna, obsah proteinů poklesl o 5 %, u objemu chleba byl zaznamenán pokles o 2 %. Při nízkém stupni dusíkaté výživy jeví se zvýšená koncentrace  $\text{CO}_2$  tendenci prohlubovat negativní účinky této výživy. Tento fakt je zjevný z následujících dat, obsah proteinu se snížil o 33 % (normální hladina  $\text{CO}_2$ ) a o 39 % (zvýšená hladina  $\text{CO}_2$ ), objem chleba se zmenšil o 22 % (normální koncentrace  $\text{CO}_2$ ) a o 29 % (zvýšená koncentrace  $\text{CO}_2$ ). Závěrem této studie tak může být předpoklad, že v budoucnosti je možno zmírňovat důsledky změn klimatu právě dostatečným dusíkatým hnojením.

## 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Cílem experimentální části bylo stanovit celkový obsah dusíkatých látek, obsah a kvalitu lepku v pšeničném zrně pěstovaném při zavlažování a suchu, v podmínkách normální a zvýšené koncentrace oxidu uhličitého, při hnojení a nehnojení dusíkem.

### 3.1 Materiál

Zkoumané vzorky pšenice byly získány z experimentální stanice Centra výzkumu globální změny v Domanínku, ležícího poblíž Bystřice nad Pernštejnem. Tento region je charakterizován průměrnými ročními srážkami 610 mm a průměrnou roční teplotou 7,2 °C. Zdejší půda je tzv. modální kambizemě s geologickým podložím ze zvětralé ruly v hloubce 60 – 90 cm. Struktura půdy je písčité (obsahuje okolo 45 – 60 % písku a více než 16 % jílu), s pH(KCl) pohybujícím se v rozmezí 4 – 5.

Experimentální stanice je tvořena 24 komorami podobnými skleníků s otevřenou vrchní stranou, se šestiúhelníkovým půdorysem o průměru 4 metrů. Výška těchto komor je 2 metry, nad otevřeným prostorem jsou umístěny rotující lamely, umožňující kontrolu ventilace a vlhkosti, na základě údajů ze srážkoměru. Ventilace, koncentrace CO<sub>2</sub> a obsah vlhkosti jsou v komorách automaticky korigovány pomocí řady senzorů.

Každá komora byla rozdělena na dvě poloviny, přičemž na jednu polovinu byla vyseta ozimá pšenice (*Triticum aestivum* L.), odrůda Bohemia a na druhou jarní ječmen (*Hordeum vulgare* L.). Pšenice byla vyseta v období 10. – 11. října 2013. Každá polovina půdy byla rozdělena do dvou podjednotek, přičemž jedna byla hnojena dusíkem v podobě dusičnanu vápenatého (N+) a druhá nebyla hnojena vůbec (N-). Toto hnojení probíhalo ve dvou etapách, a to nejprve 14. března a pak i 10. dubna 2014, pokaždé v množství 100 kg N·ha<sup>-1</sup>. Celkové množství dusíku tedy odpovídalo 200 kg N·ha<sup>-1</sup>. Pšenice byla v době vegetace (květen – červenec) vystavena normální (AC) a zvýšené koncentraci CO<sub>2</sub> (EC - 700 μmol·mol<sup>-1</sup>). Dostupnost UV záření byla zajišťována pomocí materiálu komor, kterým byly dva typy transparentních materiálů. V jednom případě (UV+) byl akrylát transparentní pro UV-A i UV-B záření, a ve druhém případě (UV-) částečně propouštěl jen UV-A záření. Podmínky vlhkosti byly ve dvou variantách, a to vlhkost daná srážkami normálními (wet) a podmínky beze srážek (dry).

Nadzemní biomasa byla manuálně sklizena v době plného zrání a poté vážena. Následovalo mlácení obilí pomocí kombajnu Delta Plot. Takto očištěné obilí bylo použito pro kvalitativní analýzy, z nichž se část provedla v akreditované laboratoři Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského v Brně (ÚKZÚZ), a zbylá část byla provedena v laboratoři Fakulty chemické Vysokého učení technického v Brně.

### 3.2 Metody

#### 3.2.1 Stanovení obsahu mokrého lepku ručním vypíráním dle normy EN ISO 21415-1

##### *Mokrý lepek*

Viskózně elastická látka, převážně se skládající ze dvou proteinových frakcí, gliadinu a gluteninu, v hydratované formě. Získána dle normy ISO 21415.

### *Princip*

Těsto se připraví ze vzorku mouky a roztoku NaCl. Takto vytvořené těsto se ponechá chvíli odpočinout, aby došlo k vyvinutí glutenových struktur. Mokrý lepek je oddělen manuálním vymýváním těsta s následným odstraněním přebytečného promývacího roztoku. Zbytek, mokrý lepek, se zváží.

### *Chemikálie*

Roztok chloridu sodného o koncentraci  $20 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  (20 g chloridu sodného bylo rozpuštěno ve vodě a v odměrné baňce doplněno vodou po rysku), roztok jodidu draselného v jodu, tzv. Lugolovo činidlo (v odměrné baňce na 100 ml bylo ve vodě rozpuštěno 2,54 g jodidu draselného, poté bylo přidáno 1,27 g jodu a po kompletním rozpuštění doplněno vodou po rysku).

### *Přístroje a pomůcky*

Keramická miska, byreta 25 ml, kádinka 250 ml, odměrná baňka 2 000 ml, odměrná baňka 100 ml, Petriho miska, špachtle, dřevěné prkénko, váleček, rukavice, nádoba s nastavitelným odtokem pro roztok NaCl, filtrační papír, stopky, hodinové sklo, kapátko, váhy

### *Postup*

Vzorek a roztok chloridu sodného by měl být minimálně přes noc v laboratoři, kde bude stanovení prováděno.

- Nejprve bylo v keramické misce naváženo 24 g vzorku mouky ( $m_1$ ), ke kterým bylo za stálého míchání po kapkách přidáno 12 ml roztoku NaCl z byrety.
- Po přidání roztoku byla z těsta pomocí špachtle vytvarována kulička, tato příprava by neměla trvat déle než 3 minuty. Poté byla kulička umístěna na Petriho misku a přikryta kádinkou, která byla vyložena vlhkým filtračním papírem. Takto byla kulička ponechána odpočinout po dobu 30 minut.
- Po uležení bylo z kuličky odváženo 30 g ( $m_2$ ), a tento podíl těsta byl v rukavicích zpracováván. Do dlaně na těsto byl přikapáván roztok chloridu sodného ze zásobní lahve, a během tohoto času bylo těsto převalováno a promačkáváno pomocí druhé ruky.
- Promývání bylo dokončeno, když roztok chloridu sodného vytlačený z kuličky byl beze stop škrobu. Test na škrob byl proveden pomocí Lugolova činidla, a to smícháním pár kapek roztoku z kuličky a pár kapek Lugolova činidla. Pokud roztok neobsahoval škrob, zůstala barva roztoku nezměněna.
- Po ukončeném promytí bylo nutno ze vzorku odstranit nadbytečný roztok zmačknutím v jedné ruce s následným vyválním na dřevěném prkénku.
- Takto získaný mokrý lepek byl zvážen ( $m_3$ ).

### *Výpočet*

$$G_{\text{wet}} = \frac{m_3 \cdot (m_1 + 12)}{m_1 \cdot m_2} \cdot 100 \%$$

## **3.2.2 Stanovení obsahu suchého lepku**

### *Princip*

Vzorek je sušen do konstantní hmotnosti za daných podmínek, ve formě, ve které byl získán, tzn. ve formě mokrého lepku.

#### *Přístroje a pomůcky*

Hliníková miska s víčkem, elektrická laboratorní sušárna, exsikátor, váhy.

#### *Postup*

- Získaný mokrý lepek z výše uvedeného stanovení byl vložen do sušárny a sušen do konstantní hmotnosti, konečná hmotnost byla zaznamenána.

### **3.2.3 Stanovení celkového dusíku dle Kjeldahla**

#### *Princip*

Pokud není obsahu dusíku příliš nízký, používá se metoda pro běžné potraviny a potravinářské suroviny. Vzorek je varem v koncentrované kyselině sírové mineralizován za přídavku katalyzátoru. Dusíkaté látky se převedou na síran amonný, z něhož se v alkalickém prostředí uvolní amoniak, předestiluje se s vodní parou a stanoví se titračně.

#### *Přístroje a pomůcky*

Váhy, mineralizační trubice, mineralizační blok, destilační přístroj dle Parnase-Wagnera, Erlenmeyerovy baňky 100 ml, byreta, titrační baňky 100 ml, odměrný válec 100 ml, odměrné baňky 100 ml, pipeta 10 ml a 25 ml.

#### *Chemikálie*

Kyselina sírová koncentrovaná, kyselina sírová o koncentraci  $0,05 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ , hydroxid sodný o hmotnostní koncentraci 33%, hydroxid sodný o koncentraci  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ , Weiningerův katalyzátor (90 g síranu sodného, 7 g síranu rtuťnatého, 1,5 g síranu měďnatého a 1,5 g selenu), roztok fenolftaleinu, Tashirův indikátor.

#### *Postup*

##### *Mineralizace*

- Do devíti mineralizačních trubic bylo naváženo po 1 g vzorku pšeničné mouky s přesností na čtyři desetinná místa, do každé byly přidány 2 g Weiningerova katalyzátoru a nakonec bylo napipetováno 10 ml koncentrované kyseliny sírové.
- Trubice byly vloženy do mineralizačního bloku a byly ponechány k mineralizaci. Ta byla ukončena, až byly vzorky čiré.

##### *Standardizace odměrného roztoku hydroxidu sodného*

- Bylo připraveno 100 ml roztoku kyseliny šťavelové o koncentraci  $0,05 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ .
- Do titrační baňky bylo napipetováno 10 ml tohoto roztoku, bylo přidáno pár kapek roztoku fenolftaleinu a bylo titrováno roztokem hydroxidu sodného ( $c = 0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) do prvního trvalého růžového zbarvení.
- Titrace byla provedena třikrát a byl spočten faktor odměrného roztoku.

##### *Standardizace odměrného roztoku kyseliny sírové*

- Do titrační baňky bylo napipetováno 10 ml roztoku kyseliny sírové ( $c = 0,05 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ), bylo přidáno pár kapek Tashirova indikátoru a bylo titrováno standardizovaným odměrným roztokem hydroxidu sodného do prvního trvalého žlutého zbarvení.
- Titrace byla provedena třikrát a byl spočten faktor odměrného roztoku.

#### Vlastní stanovení

- Mineralizát vzorku pšeničné mouky byl kvantitativně převeden do odměrné baňky na 100 ml a byl doplněn vodou po značku. 10 ml z tohoto roztoku bylo napipetováno do destilační baňky, bylo přidáno několik kapek fenolftaleinu a destilační baňka byla připojena k destilační aparatuře.
- Pomocí dělicí nálevky bylo do destilační baňky přidáno asi 40 ml 33 % roztoku hydroxidu sodného až do fialového zbarvení.
- Uvolňující se amoniak byl předestilován vodní parou do předlohy s 25 ml standardizovaného roztoku kyseliny sírové. Konec chladiče musí sahat až ke dnu předlohy a destilaci je nutné regulovat, aby neprobíhala příliš rychle a uvolněný amoniak se kvantitativně navázal.
- Po 20 minutách destilace byla předloha snížena, tak aby konec chladiče již do roztoku nezasahoval a po dobu 5 minut bylo v destilaci pokračováno.
- Po ukončení destilace byl konec chladiče opláchnut destilovanou vodou do předlohy, bylo přidáno pár kapek Tashirova indikátoru a byla provedena titrace odměrným roztokem hydroxidu sodného do prvního trvale žlutého zbarvení.

#### Výpočet

Hmotnostní zlomek celkového dusíku v daném vzorku byl vypočten dle následujícího vzorce

$$w_N = \frac{2 \cdot \left( c_{H_2SO_4} \cdot V_{H_2SO_4} - \frac{c_{NaOH} \cdot V_{NaOH}}{2} \right) \cdot M_N}{m}$$

Obsah dusíku byl poté přepočten na obsah hrubé bílkoviny pomocí vynásobení faktorem 5,70.

### 3.2.4 Stanovení sedimentačního indexu - Zelený test dle ČSN EN ISO 5529

#### Princip

Tento postup je určen pro stanovení jednoho z faktorů určujících jakost pšenice, jež ovlivňuje pekařskou jakost mouky vyrobené z této pšenice.

Tento test je založen na schopnosti bílkovin mouky bobtnat v kyselém prostředí. Ze vzorku mouky, která byla připravena za předem stanovených podmínek, se připraví suspenze v roztoku kyseliny mléčné a isopropanolu s přidavkem barviva. Po stanovené době protřepávání a klidu se odečte objem sedimentu vzniklého sedimentací částic mouky, tento objem je ukazatelem kvality lepkové bílkoviny.

#### Chemikálie

Kyselina DL-mléčná o hmotnostní koncentraci 85% (komerčně dodávaná), roztok hydroxidu sodného o koncentraci  $0,5 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  (20 g hydroxidu sodného bylo rozpuštěno ve vodě a v odměrné baňce na 1 000 ml doplněno vodou po rysku), ethanol o hmotnostní koncentraci 96%, roztok fenolftaleinu o koncentraci  $10 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  (1 g fenolftaleinu byl rozpuštěn v ethanolu a následně v odměrné baňce na 100 ml doplněn ethanollem po značku), zásobní roztok kyseliny mléčné o koncentraci 2,7 - 2,8  $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$  (250 ml kyseliny mléčné bylo v 1 000 ml odměrné baňce doplněno vodou po rysku, poté byl tento roztok přelit do 2 000 ml varné baňky se zábrusem a umístěn na vařič, po připojení baňky ke zpětnému chladiči byl roztok po dobu 6 hodin vařen), isopropanol, zkušební roztok kyseliny mléčné (v 1 000 ml odměrné baňce bylo smícháno 180 ml zásobního roztoku kyseliny mléčné s 200 ml isopropanolu a doplněno vodou po značku, roztok je třeba po 15 dnech připravit nový), roztok bromfenolové modři (4 mg bromfenolové

modří byly rozpuštěny v odměrné baňce na 1 000 ml a doplněny po rysku), roztok chloridu vápenatého o hmotnostní koncentraci 20% (20 g chloridu vápenatého bezvodého bylo rozpuštěno v 80 ml vody), 0,1 % roztok methyloranže (0,1 g methyloranže bylo rozpuštěno ve vodě a následně vodou doplněno v odměrné baňce na 100 ml po rysku), roztok kyseliny šťavelové o koncentraci  $0,25 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  (31,518 g kyseliny šťavelové bylo rozpuštěno ve vodě a následně vodou doplněno v odměrné baňce na 1 000 ml po rysku).

#### *Přístroje a pomůcky*

Odměrné válce 100 ml, třepačka na válce s frekvencí 40 kmitů/min s časovým spínačem, varná baňka se zábrusem 2 000 ml, zpětný chladič, elektrický vařič, byreta 50 ml, analytické váhy, plastové krabičky s víčkem 200 ml, stopky.

#### *Postup*

- Bylo naváženo ( $3,2 \pm 0,05$ ) g vzorku, které byly pomocí násypky přesypány do odměrného válce s 50 ml roztoku bromfenolové modří. Válec byl poté horizontálně protřepáván ve vodorovné poloze do vzdálenosti přibližně 20 cm, dvanáctkrát v každém směru po dobu 5 s.
- Po ručním protřepání byl válec vložen do třepačky, po 5 minutách bylo k obsahu válce přidáno 25 ml zkušební roztoku kyseliny mléčné a v třepání bylo pokračováno dalších 5 minut.
- Po ukončení procesu třepání byl válec postaven; do vzpřímené polohy a po 5 minutách byl odečten objem sedimentu s přesností na 1 ml.

#### *Vyjádření výsledků*

Číslo, odpovídající objemu sedimentu, vyjádřené v mililitrech, se označuje jako sedimentační index. Výsledná hodnota se získává jako aritmetický průměr dvou stanovení, pokud je splněn požadavek na mez opakovatelnosti (2 ml pro celý rozsah měření).

Výsledek je uváděn v celých číslech.

### **3.2.5 Stanovení čísla poklesu dle ČSN EN ISO 3093**

#### *Princip*

Stanovení slouží ke zjištění aktivity  $\alpha$ -amylázy u obilovin a je založeno na schopnosti vodní suspenze mouky rychle zmazovatět ve vroucí vodní lázni a na měření ztekucení škrobu, ke kterému dochází působením  $\alpha$ -amylázy přítomné ve vzorku. Ztekucení ovlivňuje odpor škrobového gelu vůči viskozimetrickému míchadlu a čas potřebný k poklesu míchadla o určenou vzdálenost.

#### *Přístroje a pomůcky*

Přístroj ke stanovení čísla poklesu Falling Number 1700, automatický dávkovač, analytické váhy, laboratorní třepačka SHAKE-MATIC.

#### *Postup*

Číslo poklesu se stanovuje při obsahu vlhkosti 15 %.

- Přístroj ke stanovení čísla poklesu byl zapnut a voda byla přivedena k varu, voda musí být po celou dobu udržována v intenzivním varu.

- Pomocí automatického dávkovače bylo do viskozimetrické zkumavky odměřeno 25 ml a poté byla do zkumavky převedena navážka vzorku a zkumavka byla uzavřena zátkou a vložena do třepačky.
- Po protřepání byla viskozimetrická zkumavka i s míchadlem vložena do přístroje ke stanovení čísla poklesu dle pokynů výrobce. Test byl ukončen, když míchadlo dosáhlo dna zmazovatělé suspenze, což bylo oznámeno zvukovým signálem. Čas potřebný k tomuto ději byl zaznamenán na displeji přístroje v sekundách.
- Po provedení stanovení bylo nutné ihned míchadla vyčistit a usušit.

#### *Vyjádření výsledků*

Výsledná hodnota se získává jako aritmetický průměr dvou stanovení, pokud je splněn požadavek na mez opakovatelnosti. Hodnoty opakovatelnosti pro různá rozmezí hodnot čísel poklesu jsou uvedeny v normě ČSN EN ISO 3093.

### **3.2.6 Stanovení vybraných parametrů v rostlinném materiálu metodou NIRs**

#### *Princip*

Vzorky jsou měřeny metodou NIR spektroskopie v blízké infračervené spektrální oblasti 4 000 - 10 000  $\text{cm}^{-1}$ , 1 000 - 2 500 nm s reflektanční detekcí. Vyhodnocení se provádí matematickými statistickými postupy z kalibračního modelu. Kalibrační model pro určitý parametr vyjadřuje míru korelace mezi výsledky získanými NIR metodou a laboratorní referenční metodou LRM, pro jeho spolehlivé vytvoření je potřeba získat dostatečně obsáhlý soubor analyzovaných vzorků.

Měření se provádí v pevném vzorku, jež se před měřením předupraví mletím a důkladně zhomogenizuje.

#### *Přístroje a pomůcky*

Spektrometr měřící v blízké infračervené spektrální oblasti (FT-NIR), křemenná kyveta.

#### *Postup*

- Dokonale homogenizovaný vzorek byl rovnoměrně nadávkován do měřící kyvety v množství, jež dovolilo uzavření kyvety. Vzorek byl lehce upěchován, aby bylo zamezeno výskytu vzduchových bublin.
- Takto přichystaný vzorek byl vložen do měřící části přístroje a bylo nasnímáno NIR spektrum. Každý vzorek byl měřen dvakrát.

#### *Vyhodnocení výsledků*

Vyhodnocení výsledků neznámých vzorků pro danou matici a parametr se provádí softwarově s použitím matematických a statistických postupů aplikovaných na vytvořené příslušné kalibrační modely.

K vyhodnocování získaných spektrálních dat se používá vhodného vyhodnocovacího softwaru. Naměřená NIR spektra jsou v tomto programu uložena a následně je možné k jednotlivým vzorkům přiřadit laboratorní referenční hodnoty. Kalibrace jsou zpracovány vhodnou regresní metodou, např. PLS. Ke kontrole kalibračního modelu a ověření predikční schopnosti daného modelu se používá metoda příčné validace, která poskytuje optimální počet latentních proměnných. Dále jsou používány různé matematické úpravy snímaných spekter, jako například derivace, korekce rozptylu záření SNV a výběr vhodných vlnových délek tak, aby byly získány co nejkvalitnější regresní charakteristiky kalibračního modelu. Předpovídající schopnosti vytvořených kalibračních modelů se ověří porovnáním laboratorní

referenční metody a NIR metody na testovaných vzorcích, které nejsou zahrnuty do vývoje kalibračního modelu.

Výsledky stanovení testovaných vzorků se uvádí v % přepočtených na obsah sušiny vzorku.

#### *Opakovatelnost*

Výsledná hodnota se získává jako aritmetický průměr dvou stanovení, pokud je splněn požadavek na mez opakovatelnosti.

Tab. 5: Hodnoty opakovatelnosti pro pšenici setou

<b>Parametr</b>	<b>Opakovatelnost</b>
Sušina	0,30 (%)
Škrob	2,00 (%/s)
Tvrdost	2,00 (PSI)

Pozn.: %/s koncentrace sledovaného parametru v % přepočtená na obsah sušiny



## 4 VÝSLEDKY

### 4.1 Stanovení celkového dusíku dle Kjeldahla

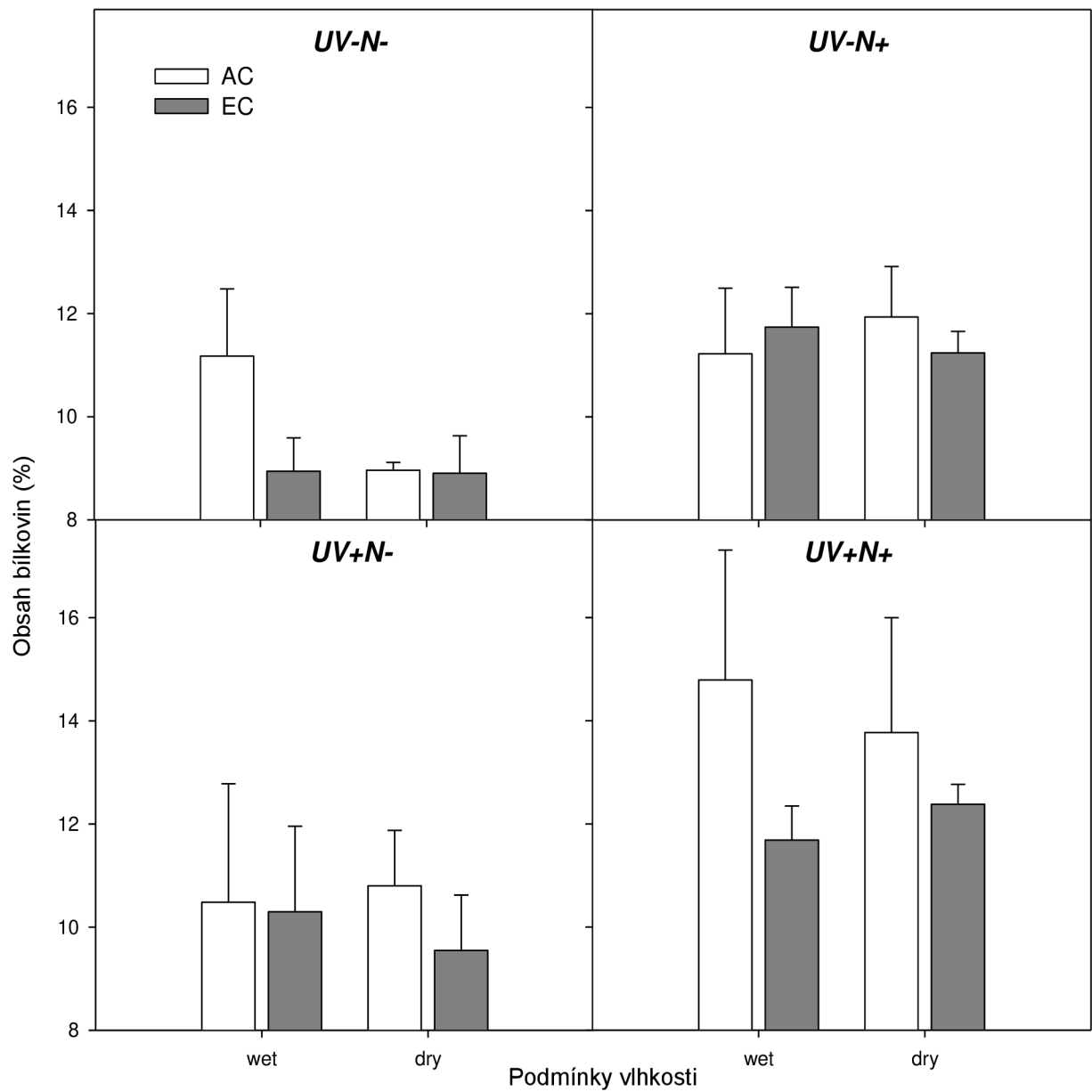
Tab. 5: Shrnutí obsahu celkového dusíku u vzorků pšenice s danými charakteristikami ([AC] normální koncentrace CO<sub>2</sub>, [EC] zvýšená koncentrace CO<sub>2</sub> - 700 ppm, [UV+] normální záření, [UV-] bez záření, [N+] 200 kg·N·ha<sup>-1</sup>, [N-] 0 kg·N·ha<sup>-1</sup>, [wet] normální srážky a [dry] beze srážek)

Charakteristika	Obsah N [%]	SD [%]	Obsah hrubé bílkoviny [%]	SD [%]
UV- DRY AC N+	2,09	0,14	11,94	0,80
UV- DRY AC N-	1,57	0,03	8,96	0,15
UV- WET EC N+	2,06	0,11	11,74	0,63
UV- WET EC N-	1,57	0,09	8,94	0,53
UV+ WET AC N+	2,60	0,36	14,79	2,06
UV+ WET AC N-	1,84	0,33	10,48	1,88
UV+ WET EC N+	2,05	0,09	11,69	0,54
UV+ WET EC N-	1,81	0,24	10,30	1,36
UV- WET AC N+	1,97	0,18	11,22	1,04
UV- WET AC N-	1,96	0,19	11,18	1,06
UV- DRY EC N+	1,97	0,06	11,24	0,34
UV- DRY EC N-	1,56	0,10	8,90	0,59
UV+ DRY EC N+	2,17	0,06	12,38	0,32
UV+ DRY EC N-	1,68	0,15	9,55	0,88
UV+ DRY AC N+	2,42	0,32	13,77	1,82
UV+ DRY AC N-	1,89	0,15	10,80	0,88

Z grafu č. 1 je patrné, že dusíkaté hnojení ovlivňuje hodnoty obsahu bílkovin v zrně nejvíce, ať už bylo pěstováno za podmínek normální nebo zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub>. Tento nárůst byl stimulován přítomností UV záření. Nejvyšších výsledků v obsahu hrubé bílkoviny dosáhl vzorek s charakteristikou UV+ WET AC N+, a to 14,79 %, naopak nejnižší hodnoty dosáhl vzorek s charakteristikou UV- DRY EC N- s hodnotou 8,90 %.

Dalším jevem, který je možno pozorovat, je vliv zvýšené koncentrace oxidu uhličitého na výsledky obsahu hrubé bílkoviny, kde bylo pozorováno snížení tohoto kvalitativního parametru, v průměru o 2 %. Pouze u varianty pěstování UV- WET N+ byl pozorován jev opačný, tedy mírný nárůst obsahu bílkovin při zvýšení koncentrace CO<sub>2</sub>, konkrétně o 0,52 %.

Z celkových 16 vzorků, odpovídají 2 elitní skupině jakosti (E), další 2 jakostní skupině A (kvalitní), 5 vzorků odpovídá jakostní skupině B (chlebová) a zbylých 7 vzorků nepatří do žádné z těchto skupin. Tyto vzorky by měly být označeny jako nevyhovující, ovšem je třeba brát v potaz fakt, že Kjeldahlova metoda není schopna stanovit veškeré dusíkaté látky, jak již bylo zmíněno výše, tím pádem je zatížena určitou chybou. Co se týče zařazení zrna k účelu využití, 10 vzorků je možno použít k pečivářským účelům, a zbylých 6 k účelům pekářským.



Graf č. 1: Vliv koncentrace CO<sub>2</sub> ([AC] normální koncentrace CO<sub>2</sub>, [EC] zvýšená koncentrace CO<sub>2</sub> - 700 ppm), UV záření ([UV+] normální záření, [UV-] bez záření), dusíkaté výživy ([N+] 200 kg·N·ha<sup>-1</sup>, [N-] 0 kg·N·ha<sup>-1</sup>) a sucha ([wet] normální srážky, [dry] beze srážek) na obsah hrubé bílkoviny dle Kjeldahla

## 4.2 Stanovení obsahu mokrého lepku ručním vypíráním a stanovení suchého lepku

Tab. 6: Shrnutí obsahu mokrého a suchého lepku u vzorků pšenice s danými charakteristikami ([AC] normální koncentrace CO<sub>2</sub>, [EC] zvýšená koncentrace CO<sub>2</sub> - 700 ppm, [UV+] normální záření, [UV-] bez záření, [N+] 200 kg·N·ha<sup>-1</sup>, [N-] 0 kg·N·ha<sup>-1</sup>, [wet] normální srážky a [dry] beze srážek)

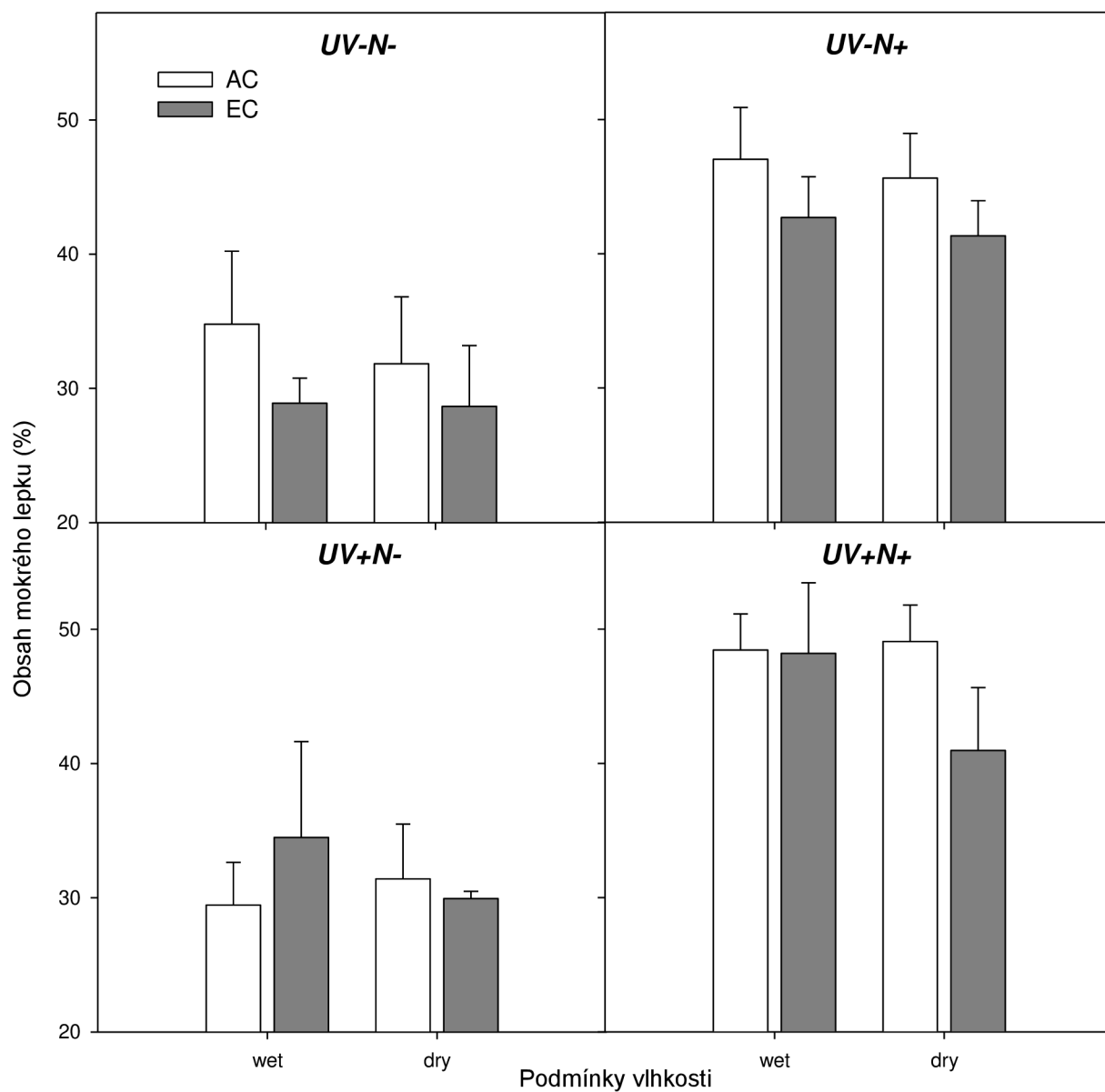
Charakteristika	Obsah mokrého lepku [%]	SD [%]	Obsah suchého lepku [%]	SD [%]
UV- DRY AC N+	45,63	2,72	3,20	0,08
UV- DRY AC N-	31,84	4,98	2,05	0,37
UV- WET EC N+	42,70	2,48	2,77	0,12
UV- WET EC N-	28,89	1,53	1,89	0,04
UV+ WET AC N+	48,45	2,20	3,15	0,12
UV+ WET AC N-	29,46	2,59	1,78	0,08
UV+ WET EC N+	48,20	4,29	3,17	0,29
UV+ WET EC N-	34,50	5,83	2,30	0,33
UV- WET AC N+	47,04	3,16	2,72	0,28
UV- WET AC N-	34,78	4,44	2,26	0,26
UV- DRY EC N+	41,34	2,14	2,86	0,37
UV- DRY EC N-	28,66	3,70	1,74	0,12
UV+ DRY EC N+	40,96	3,83	3,02	0,03
UV+ DRY EC N-	29,94	0,45	2,00	0,09
UV+ DRY AC N+	49,08	2,22	3,25	0,18
UV+ DRY AC N-	31,40	3,34	2,12	0,20

Z grafu č. 2 je patrné, že dusíkaté hnojení razantně zvyšuje obsah mokrého lepku v pšeničném zrně, a celkově v průměru činil 14 % u obou variant dostupnosti UV záření. Nejvyšších hodnot v obsahu mokrého lepku dosáhl vzorek s charakteristikou UV+ DRY AC N+, a to 49,08, naopak nejnižší hodnoty dosáhl vzorek s charakteristikou UV- DRY EC N- s hodnotou 28,66 %.

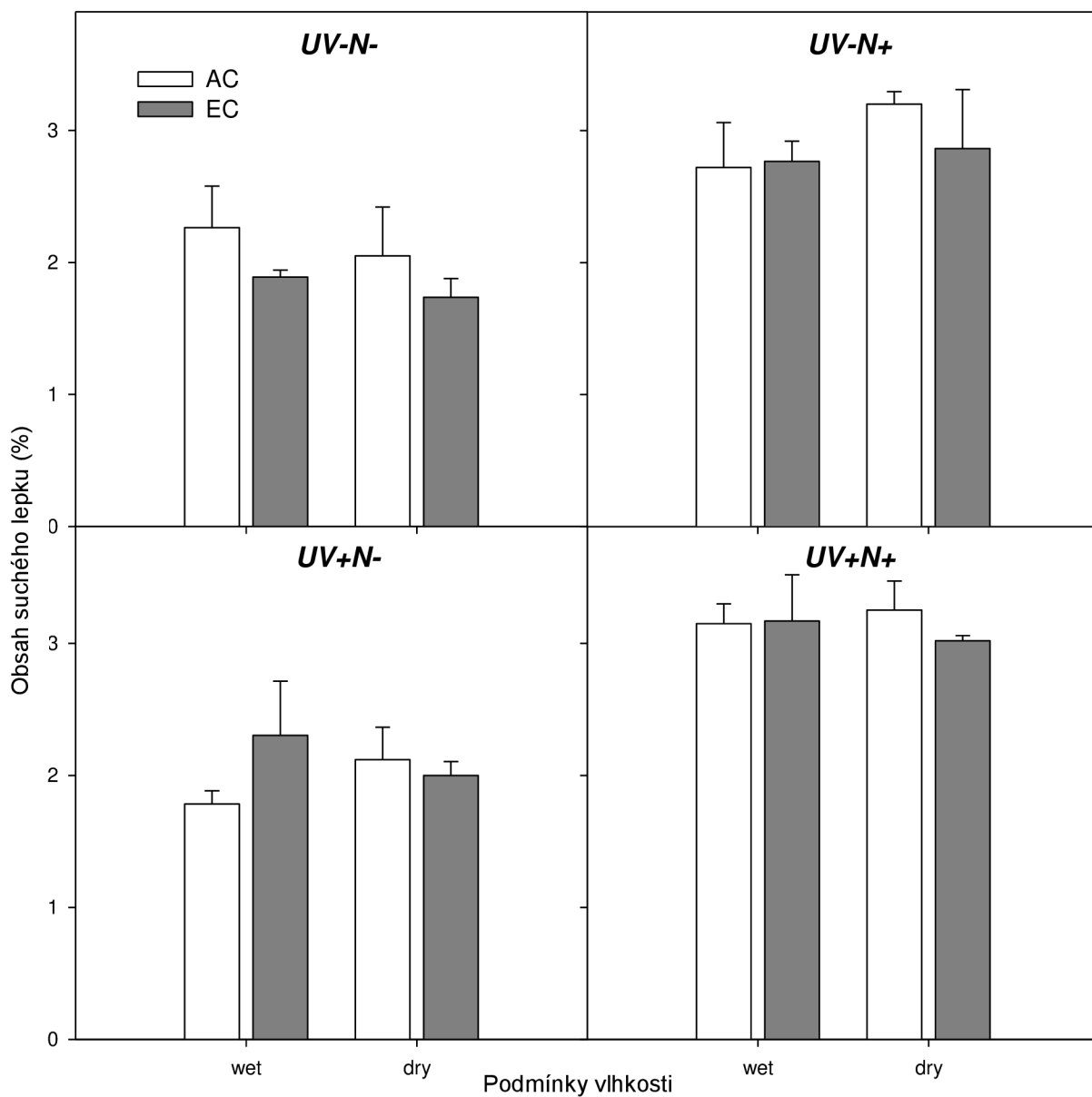
Dále lze z grafu pozorovat, že vlivem zvýšené koncentrace oxidu uhličitého dochází k poklesu (5 % v průměru) obsahu mokrého lepku ve vzorcích, pouze u vzorku pěstovaného za podmínek UV+ WET N- došlo k mírnému nárůstu tohoto obsahu, konkrétně tento nárůst činil 5 %. Přítomnost UV záření se nijak razantně na výsledcích neprojevila.

Z grafu č. 3 je vidět, že dusíkaté hnojení zvyšuje obsah suchého lepku, v rozmezí 0,5 – 1,0 %. Zvýšená koncentrace oxidu uhličitého v atmosféře zapříčiňuje pokles obsahu suchého lepku. Jako u grafu závislosti obsahu mokrého lepku se zde vyskytuje i jev opačný, tedy mírný nárůst obsahu suchého lepku, konkrétně u varianty UV+ WET N-. Nárůst činil zhruba 0,5 %. Přítomnost UV záření se nijak razantně na výsledcích neprojevila.

Vzorky pšenice s maximálním a minimálním obsahem suchého lepku korespondují s výsledky obsahu mokrého lepku. Nejvyšší obsah suchého lepku měl vzorek s charakteristikou UV+ DRY AC N+, a to 3,25 %, naopak nejnižší hodnoty dosáhl vzorek s charakteristikou UV- DRY EC N- s hodnotou 1,74 %.



Graf č. 2: Vliv koncentrace CO<sub>2</sub> ([AC] normální koncentrace CO<sub>2</sub>, [EC] zvýšená koncentrace CO<sub>2</sub> - 700 ppm), UV záření ([UV+] normální záření, [UV-] bez záření), dusíkaté výživy ([N+] 200 kg·N·ha<sup>-1</sup>, [N-] 0 kg·N·ha<sup>-1</sup>) a sucha ([wet] normální srážky, [dry] beze srážek) na obsah mokrého lepku v znu



Graf č. 3: Vliv koncentrace CO<sub>2</sub> ([AC] normální koncentrace CO<sub>2</sub>, [EC] zvýšená koncentrace CO<sub>2</sub> - 700 ppm), UV záření ([UV+] normální záření, [UV-] bez záření), dusíkaté výživy ([N+] 200 kg·N·ha<sup>-1</sup>, [N-] 0 kg·N·ha<sup>-1</sup>) a sucha ([wet] normální srážky, [dry] beze srážek) na obsah suchého lepku v zru

### 4.3 Stanovení Zeleného sedimentačního indexu

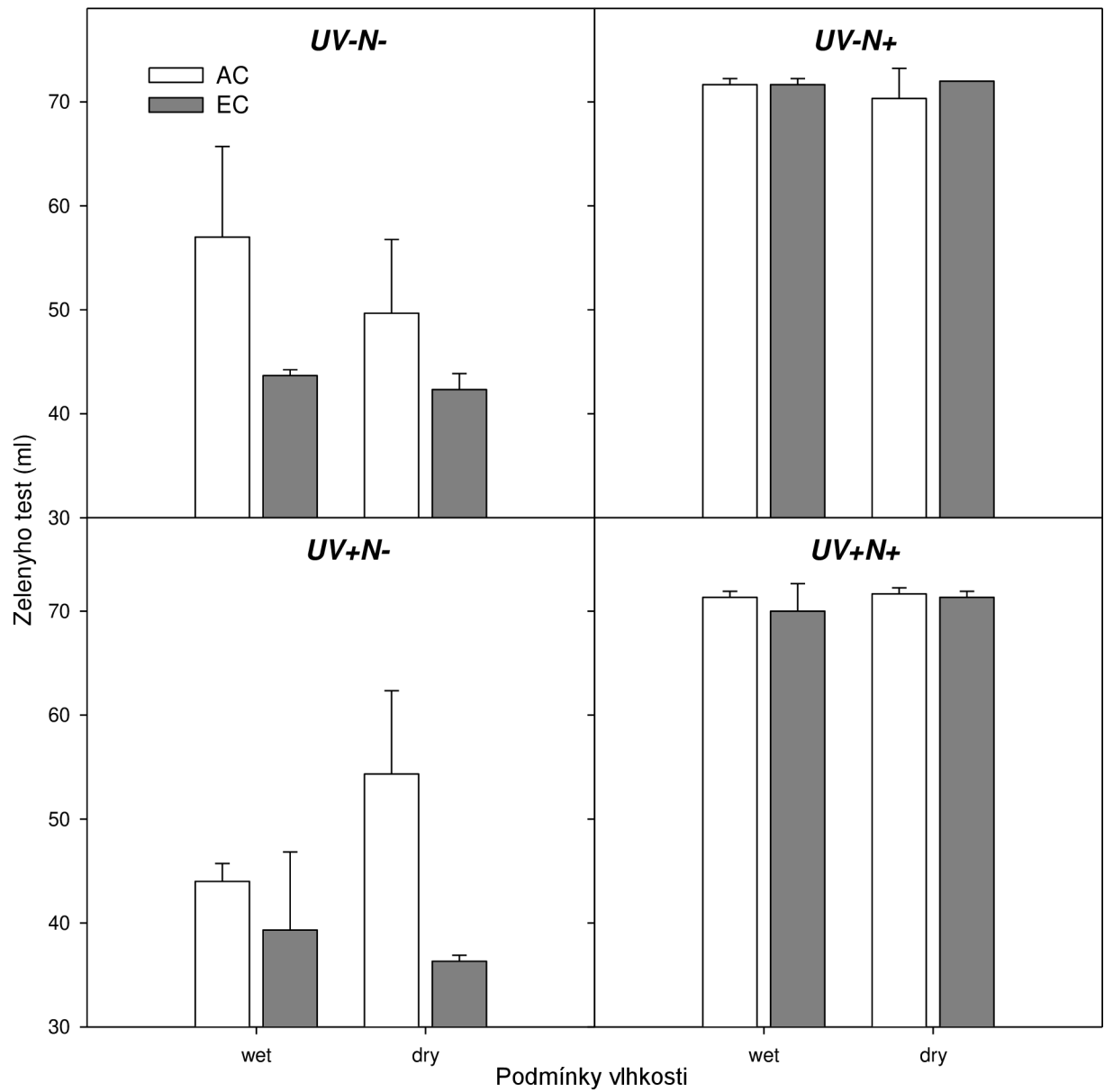
Tab. 7: Shrnutí výsledků Zeleného sedimentačního indexu u vzorků pšenice s danými charakteristikami ([AC] normální koncentrace CO<sub>2</sub>, [EC] zvýšená koncentrace CO<sub>2</sub> - 700 ppm, [UV+] normální záření, [UV-] bez záření, [N+] 200 kg·N·ha<sup>-1</sup>, [N-] 0 kg·N·ha<sup>-1</sup>, [wet] normální srážky a [dry] beze srážek)

Charakteristika	Sedimentační index [ml]	SD [ml]
UV- DRY AC N+	70,33	2,36
UV- DRY AC N-	46,33	6,85
UV- WET EC N+	71,67	0,47
UV- WET EC N-	43,67	0,47
UV+ WET AC N+	71,33	0,47
UV+ WET AC N-	44,00	1,41
UV+ WET EC N+	70,00	2,16
UV+ WET EC N-	42,67	7,59
UV- WET AC N+	71,67	0,47
UV- WET AC N-	57,00	7,12
UV- DRY EC N+	72,00	0,00
UV- DRY EC N-	42,33	1,25
UV+ DRY EC N+	71,33	0,47
UV+ DRY EC N-	36,33	0,47
UV+ DRY AC N+	71,67	0,47
UV+ DRY AC N-	54,33	6,55

Z grafu č. 4 je patrné, že dusíkaté hnojení ovlivňuje výsledky Zeleného sedimentačního testu nejvýznamněji. Tento nárůst byl také stimulován působením zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub>, a celkově činil v průměru 35 % u obou variant dostupnosti UV záření. Nejvyšších hodnot Zeleného sedimentačního testu dosáhl vzorek s charakteristikou UV- DRY EC N+, a to 72,00 ml, naopak nejnižší hodnoty dosáhl vzorek s charakteristikou UV+ DRY EC N- s hodnotou 36,33 ml.

Dalším jevem, který je možno pozorovat, je vliv zvýšené koncentrace oxidu uhličitého na výsledky sedimentačního testu v podmínkách bez dusíkatého hnojení, kde bylo pozorováno snížení tohoto kvalitativního parametru, v průměru o 20 %. Přítomnost UV záření se nijak zvláště na výsledcích neprojevila, významnější pokles (o 23 %) lze pozorovat pouze u vzorku pěstovaného za normální koncentrace, ve vlhkých podmínkách a bez dusíkatého hnojení.

Z celkových 16 vzorků, odpovídá celkem 10 elitní skupině jakosti (E) a 6 jakostní skupině A (kvalitní). Všechny testované vzorky splnily hranici 30 ml, což je minimální požadavek pro zařazení pšenice pro pekárenské využití.



Graf č. 4: Vliv koncentrace CO<sub>2</sub> ([AC] normální koncentrace CO<sub>2</sub>, [EC] zvýšená koncentrace CO<sub>2</sub> - 700 ppm), UV záření ([UV+] normální záření, [UV-] bez záření), dusíkaté výživy ([N+] 200 kg·N·ha<sup>-1</sup>, [N-] 0 kg·N·ha<sup>-1</sup>) a sucha ([wet] normální srážky, [dry] beze srážek) na Zelenyho sedimentační index

#### 4.4 Stanovení čísla poklesu

Tab. 8: Shmutí hodnot čísla poklesu u vzorků pšenice s danými charakteristikami ([AC] normální koncentrace CO<sub>2</sub>, [EC] zvýšená koncentrace CO<sub>2</sub> - 700 ppm, [UV+] normální záření, [UV-] bez záření, [N+] 200 kg·N·ha<sup>-1</sup>, [N-] 0 kg·N·ha<sup>-1</sup>, [wet] normální srážky a [dry] beze srážek)

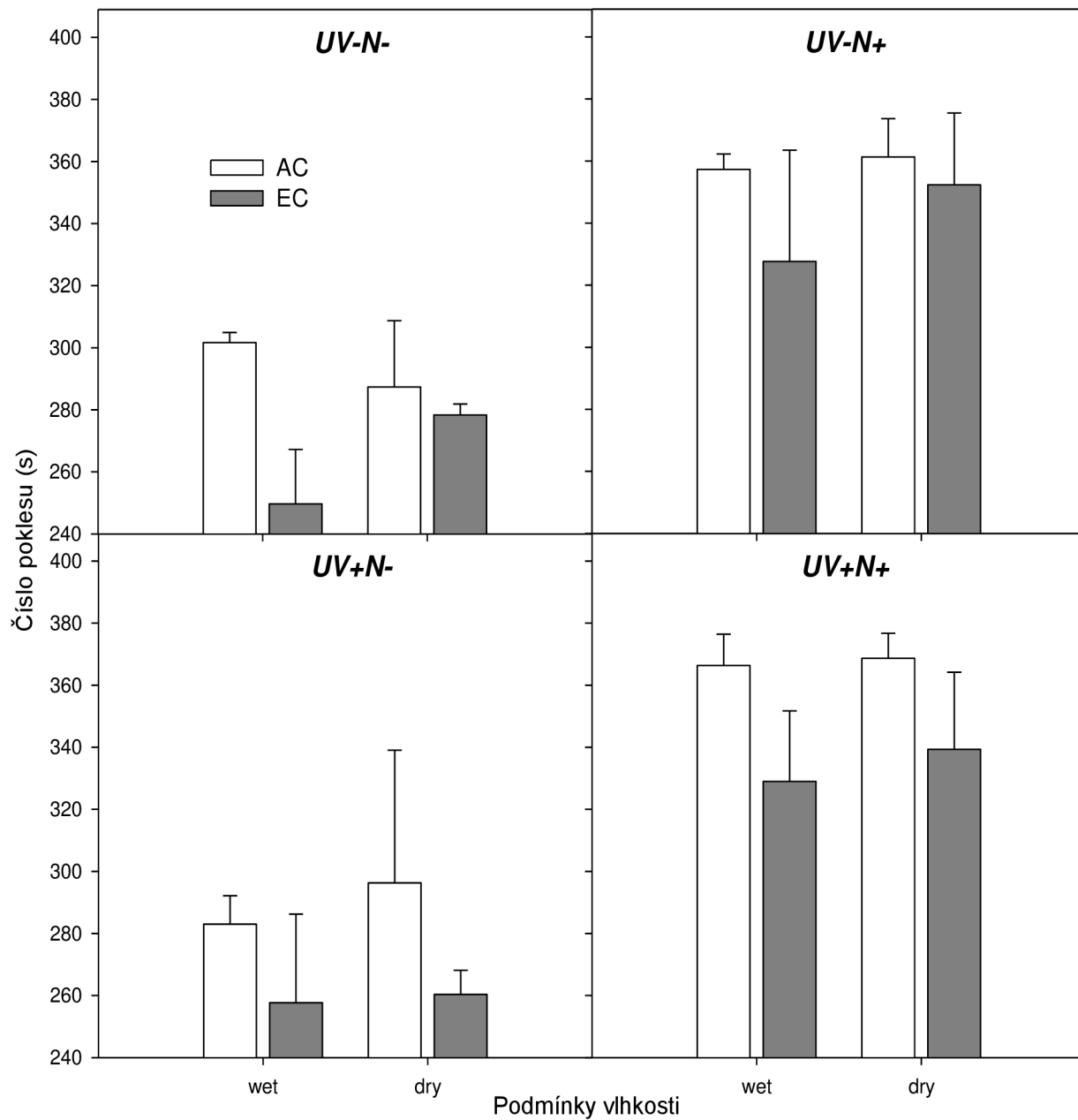
Charakteristika	Číslo poklesu [s]	SD [s]
UV- DRY AC N+	361,33	10,08
UV- DRY AC N-	287,33	17,44
UV- WET EC N+	327,67	29,26
UV- WET EC N-	249,67	14,34
UV+ WET AC N+	366,33	8,26
UV+ WET AC N-	283,00	7,48
UV+ WET EC N+	329,00	18,55
UV+ WET EC N-	257,67	23,33
UV- WET AC N+	357,33	4,03
UV- WET AC N-	301,67	2,62
UV- DRY EC N+	352,33	18,93
UV- DRY EC N-	278,33	2,87
UV+ DRY EC N+	339,33	20,29
UV+ DRY EC N-	260,33	6,34
UV+ DRY AC N+	368,67	6,60
UV+ DRY AC N-	309,67	43,39

Z grafu č. 5 vyplývá, že dusíkaté hnojení ovlivňuje výsledky čísla poklesu velmi výrazně. Také lze pozorovat efekt působení zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub>, který zapříčinil snížení hodnoty čísla poklesu oproti výsledkům pšenice, pěstované při koncentraci normální. Konkrétně se tento pokles pohyboval okolo 10 %. Nejvyšších hodnot čísla poklesu dosáhl vzorek s charakteristikou UV+ WET AC N+, a to 366,33 s, naopak nejnižší hodnoty dosáhl vzorek s charakteristikou UV- WET EC N- s hodnotou 249,67.

Přítomnost UV záření se na výsledcích projevila jen mírně, kromě dvou případů (AC WET a EC DRY) bez dusíkatého hnojení, nastal u všech vzorků mírný nárůst hodnoty čísla poklesu.

Z celkových 16 vzorků, odpovídá celkem 11 elitní skupině jakosti (E) a 5 jakostní skupině A (kvalitní). Všechny testované vzorky splnili hranici 160 s, což je minimální hodnota čísla poklesu, kdy je možno zrno použít v potravinářském průmyslu. 10 zkoumaných vzorků dosáhlo hodnoty čísla poklesu vyšší než 300, což znamená, že při využití v potravinářském průmyslu bude nutno zvýšit aktivitu amyláz přidáním sladové moučky.





Graf č. 5: Vliv koncentrace CO<sub>2</sub> ([AC] normální koncentrace CO<sub>2</sub>, [EC] zvýšená koncentrace CO<sub>2</sub> - 700 ppm), UV záření ([UV+] normální záření, [UV-] bez záření), dusíkaté výživy ([N+] 200 kg·N·ha<sup>-1</sup>, [N-] 0 kg·N·ha<sup>-1</sup>) a sucha ([wet] normální srážky, [dry] beze srážek) na číslo poklesu

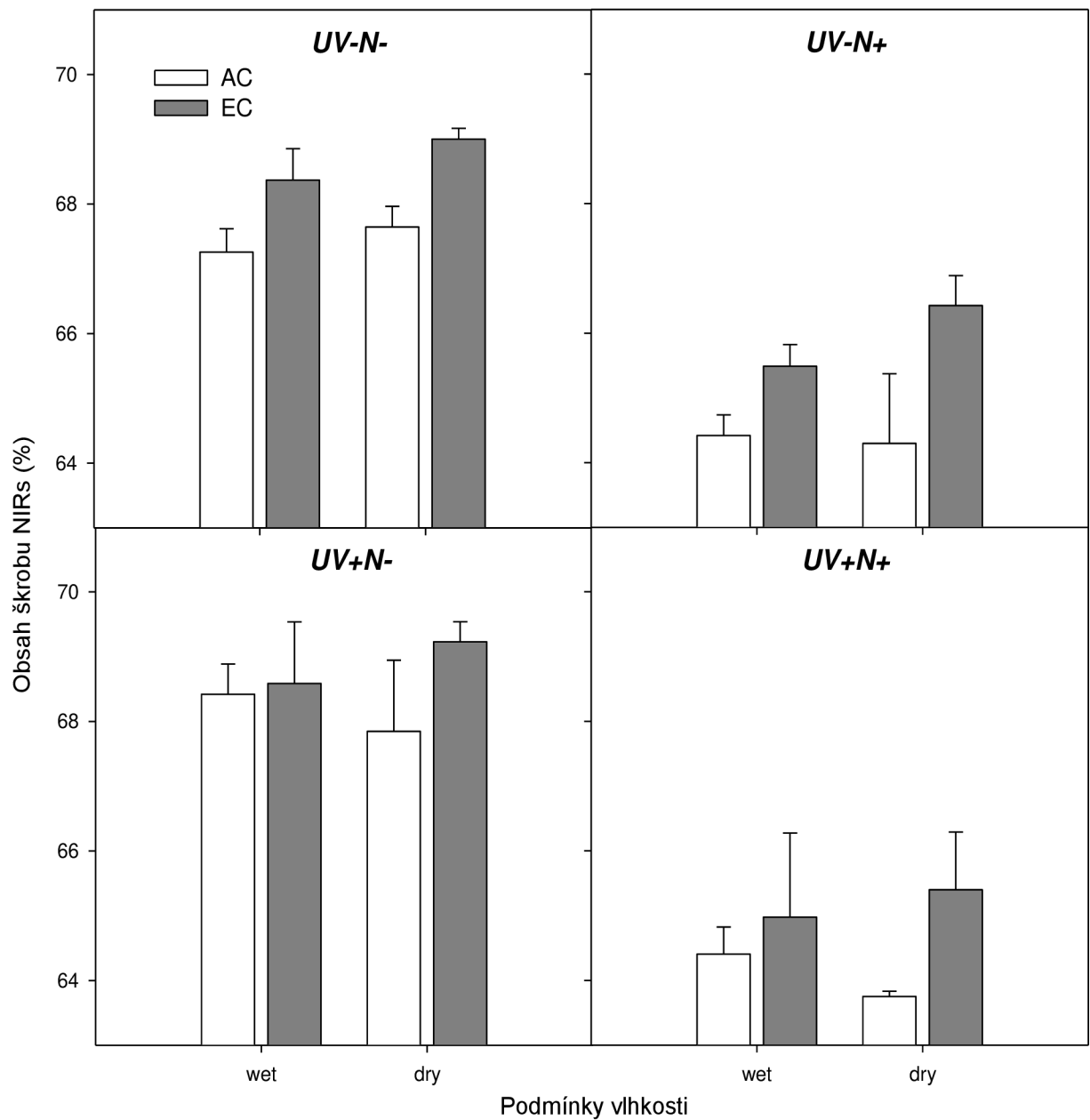
## 4.5 Stanovení obsahu škrobu pomocí NIRs

Tab. 9: Shrnutí obsahu škrobu u vzorků pšenice s danými charakteristikami ([AC] normální koncentrace CO<sub>2</sub>, [EC] zvýšená koncentrace CO<sub>2</sub> - 700 ppm, [UV+] normální záření, [UV-] bez záření, [N+] 200 kg·N·ha<sup>-1</sup>, [N-] 0 kg·N·ha<sup>-1</sup>, [wet] normální srážky a [dry] beze srážek)

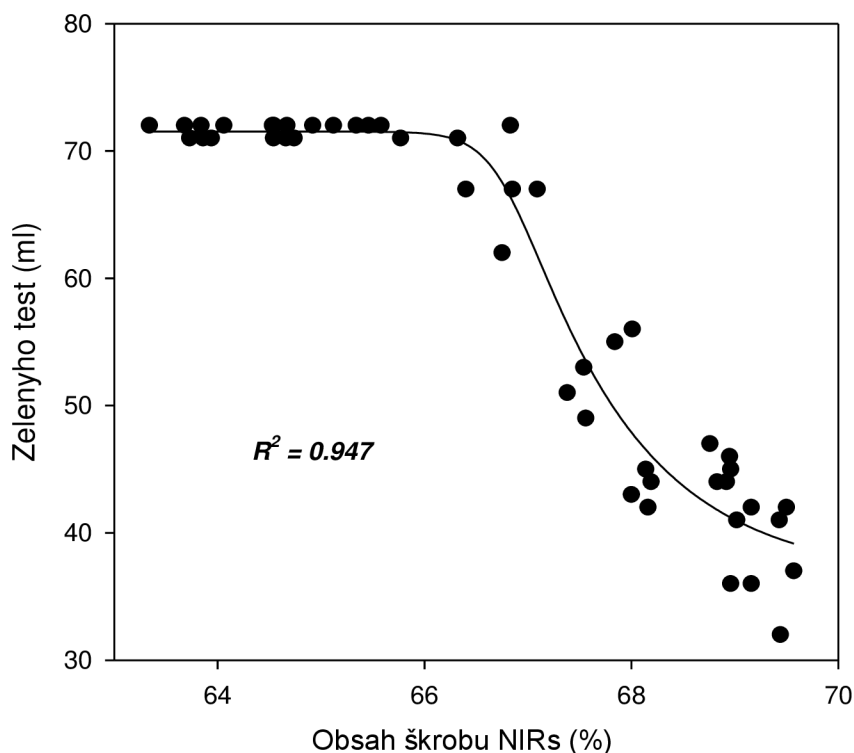
Charakteristika	Obsah škrobu [%]	SD [%]
UV- DRY AC N+	65,30	1,54
UV- DRY AC N-	68,98	0,69
UV- WET EC N+	65,49	0,27
UV- WET EC N-	68,37	0,40
UV+ WET AC N+	64,41	0,34
UV+ WET AC N-	68,42	0,38
UV+ WET EC N+	64,98	1,06
UV+ WET EC N-	68,59	0,78
UV- WET AC N+	64,42	0,26
UV- WET AC N-	67,26	0,29
UV- DRY EC N+	65,43	1,00
UV- DRY EC N-	69,00	0,14
UV+ DRY EC N+	65,40	0,73
UV+ DRY EC N-	69,23	0,25
UV+ DRY AC N+	63,75	0,07
UV+ DRY AC N-	67,85	0,90

Z grafu č. 6 vyplývá, že dusíkaté hnojení významně snižuje obsah škrobu v pšenici, v průměru o 5 % u obou variant dostupnosti UV záření.

Dalším efektem, jenž je možno pozorovat je zvýšení obsahu škrobu u vzorků rostoucích při zvýšené koncentraci CO<sub>2</sub>, nezávislého na dostupnosti UV záření i dusíkatého hnojení. Konkrétně se tento nárůst pohyboval okolo 1,5 %. Nejvyšších hodnot obsahu škrobu dosáhl vzorek s charakteristikou UV- DRY EC N-, a to 69,00 %, naopak nejnižší hodnoty dosáhl vzorek s charakteristikou UV+ DRY AC N+ s hodnotou 63,75 %. Přítomnost UV záření se nijak zvláště na hodnotách obsahu škrobu neprojevila.



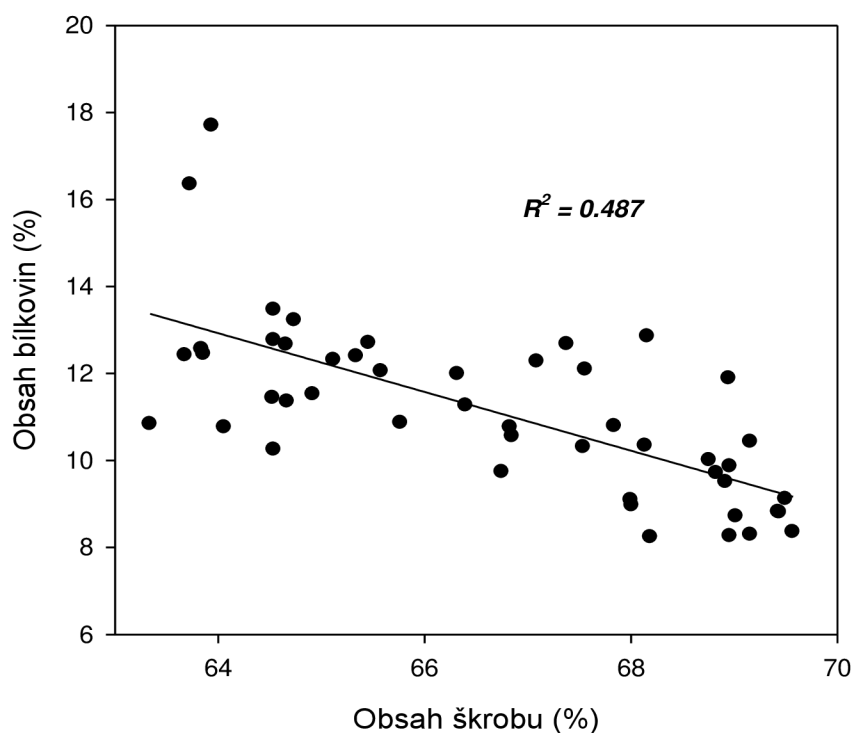
Graf č. 6: Vliv koncentrace CO<sub>2</sub> ([AC] normální koncentrace CO<sub>2</sub>, [EC] zvýšená koncentrace CO<sub>2</sub> - 700 ppm), UV záření ([UV+] normální záření, [UV-] bez záření), dusíkaté výživy ([N+] 200 kg·N·ha<sup>-1</sup>, [N-] 0 kg·N·ha<sup>-1</sup>) a sucha ([wet] normální srážky, [dry] beze srážek) na obsah škrobu zjišťovaný metodou NIRs



Graf č. 7: Závislost hodnot Zelenyho sedimentačního testu na obsahu škrobu u zkoumaných vzorků pšenice

Graf č. 7 ukazuje vztah mezi obsahem škrobu v pšeničném zrně a Zelenyho sedimentačním indexem. V důsledku zvýšené koncentrace oxidu uhličitého dochází k nárůstu obsahu škrobu a zároveň k poklesu hodnot Zelenyho sedimentačního testu. Je tedy zřejmé, že Zelenyho test je ať už přímo nebo nepřímo spojen se zvyšováním obsahu škrobu. V první polovině závislosti lze pozorovat, že dostatečná výživa dusíkem (N+) zabraňuje poklesu Zelenyho sedimentačního indexu v souvislosti s nárůstem obsahu škrobu (hodnoty Zelenyho testu neklesají). Naopak z druhé části grafu je zřejmé, že při nedostatečném dusíkatém hnojení dochází k významnému poklesu Zelenyho sedimentačního testu s obsahem škrobu.

Graf č. 8 ukazuje vztah mezi obsahem škrobu v pšeničném zrně a obsahem bílkovin. Jak již bylo řečeno v popisu složení pšeničného zrna mezi obsahem škrobu a obsahem bílkovin platí nepřímá úměrnost, a díky působení zvýšené koncentrace oxidu uhličitého dochází k navyšování obsahu škrobu. Z hodnoty korelačního koeficientu ( $R^2 = 0,487$ ) je vidět, že závislost není příliš přesná a je zde mnoho odchylek. Tato závislost nesplňuje podmínku linearity, která říká, že korelační koeficient nesmí být nižší než 0,98. Z této závislosti by měl být pozorován podobný trend jako u grafu č. 7, tedy že vlivem dostatečné výživy dusíkem dochází k určitému bránění v poklesu obsahu bílkovin, a při nedostatku tohoto hnojení již k poklesu dochází. Ovšem tento pokles není tak výrazný jako u závislosti Zelenyho sedimentačního testu na obsahu škrobu.



Graf č. 8: Závislost hodnot obsahu hrubých bílkovin na obsahu škrobu u zkoumaných vzorků pšenice

Tab.: 10: Průkaznost vlivů jednotlivých faktorů na kvalitu pšeničného zrna

Faktor	Zelenýho test	Obsah škrobu	Číslo poklesu	Mokrý lepek	Suchý lepek	Obsah bílkovin
UV záření	0.206	0.411	0.974	0.245	<b>0.034</b>	<b>0.004</b>
Koncentrace CO <sub>2</sub>	<b>0.001</b>	<b>0.004</b>	<b>0.000</b>	<b>0.022</b>	0.192	<b>0.010</b>
Podmínky vlhkosti	0.483	0.134	0.107	0.115	0.742	0.369
N výživa	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
UV x CO <sub>2</sub>	0.609	0.469	0.422	0.178	0.058	0.268
UV x vlhkost	0.080	0.098	0.985	0.729	0.709	0.680
CO <sub>2</sub> x vlhkost	0.654	0.892	0.359	0.223	<b>0.048</b>	0.605
UV x N	0.309	0.197	0.831	0.352	0.199	0.283
CO <sub>2</sub> x N	<b>0.001</b>	0.710	0.558	0.228	0.717	0.760
vlhkost x N	0.408	0.352	0.964	0.704	0.155	0.409

Tabulka 10 ukazuje průkaznosti vlivu jednotlivých faktorů v práci sledovaných a jejich dvojných interakcí na parametry kvality pšeničného zrna. Tyto průkaznosti byly zjištěny pomocí vícefaktorové analýzy variance (ANOVA). Hodnoty pravděpodobnosti p vyznačené tučnými červenými čísly představují průkazný vliv faktoru či interakci. Pokud hodnoty pravděpodobnosti nabývají hodnot menších než 0,01, jedná se o vliv vysoce průkazný.

Nejprůkaznější je tedy ovlivnění vlastností dusíkatou výživou, jelikož hodnoty pravděpodobnosti se u všech stanovení rovnají nule, dále byl označen jako vysoce průkazný vliv koncentrace oxidu uhličitého v atmosféře, zde došlo k výraznému ovlivnění Zelenyho sedimentačního testu, obsahu škrobu, čísla poklesu a také obsahu bílkovin. V případě ovlivnění Zelenyho sedimentačního testu došlo k navýšení účinku při působení koncentrace CO<sub>2</sub> a přítomnosti dusíkaté výživy. Přítomnost UV záření byla označena jako průkazná pouze v případě obsahu bílkovin.

## 5 DISKUZE

Wieser a kol. [56] uvádějí, že zvýšená koncentrace CO<sub>2</sub> zapříčiní významný pokles obsahu veškerých proteinových frakcí kromě metabolických proteinů, a že je tento pokles více markantní u pšenice, která byla hnojena normální dávkou dusíkatého hnojiva. S podobnými závěry přišli i Erbs a kol. [73], Rogers a kol. [69], nebo i Taub a kol. [62]. Při jejich studii také došlo vlivem zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> k poklesu obsahu bílkovin a k tomuto poklesu došlo i při podmínkách bez dusíkaté výživy. Naše výsledky potvrdily významný vliv zvýšené koncentrace oxidu uhličitého na obsah proteinů, v průměru tento pokles činil 2 %.

Kimball a kol. [57] ve své studii tvrdí, že suché podmínky při růstu způsobují mírný nárůst obsahu proteinů, což zlepšuje kvalitu pšeničného zrna, a naopak nízká úroveň dusíkatého hnojení tuto kvalitu snižuje významně. Dále také uvádějí, že při podmínkách dostatku vody, dusíkaté výživy a zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> dochází jen k mírnému snížení kvality zrna, což vysvětlují právě dusíkatou výživou, která působí proti účinku zvýšené koncentrace oxidu uhličitého. V našem měření nebyl prokázán statisticky významný vliv dostupnosti srážek na obsah proteinů v pšeničném zrně, ovšem výsledky potvrdily ovlivnění dusíkatou výživou, jelikož při dostatečné výživě došlo k výraznému nárůstu obsahu hrubé bílkoviny, přičemž tento nárůst byl stimulován UV zářením.

Změnami v obsahu lepku se zabývá méně autorů, například Piikki a kol. [61] konstatují, že působením vyšší koncentrace oxidu uhličitého dochází k redukcí množství lepku, ať už suchého nebo mokrého. Toto tvrzení je v souladu s našimi výsledky, přičemž tento pokles u mokrého lepku nabýval v průměru 5 %. Jedním z nejdůležitějších parametrů ovlivňujících koncentraci lepku je úroveň dusíkatého hnojení, které i v našich stanoveních vykazovalo významné navýšení obsahu mokrého lepku, u suchého lepku byl nárůst méně významný. Nejefektivněji se potom jeví kombinace zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub>, indukující větší výnos, a dusíkatého hnojení k zabránění poklesu koncentrace lepku. I další studie [59] prokázala snížení obsahu mokrého i suchého lepku, a také pokles hodnot Zelenyho sedimentačního testu a čísla poklesu v důsledku působení zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub>, což je také v souladu s našimi výsledky. Byl zaznamenán pokles hodnot Zelenyho sedimentačního testu, který se v průměru pohyboval kolem 20 %, a snížení čísla poklesu činilo zhruba 10 %. Co se týče obsahu škrobu Erbs a kol. [73] zmiňují jeho nárůst vlivem snížené dusíkaté výživy, a to až o 4 %. V našem experimentu byl tento pokles velice podobný, v průměru činil 5 %.

## 6 ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo zjištění vlivu dusíkatého hnojení, sucha a UV záření na kvalitu pšeničného zrna pěstovaného v podmínkách normální a zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub>.

Vzorky pšenice byly získány z experimentální stanice Centra výzkumu globální změny v Domanínku, ležícího poblíž Bystřice nad Pernštejnem. Pšenice ozimá (*Triticum aestivum* L.), odrůda Bohemia byla vyseta v období 10. – 11. října 2013 a byla pěstována v komorách podobným skleníkům. Střecha těchto komor je tvořena otáčivými lamelami, regulujícími ventilaci a srážky, pomocí údajů ze srážkoměru. Půda byla rozdělena do dvou podjednotek, přičemž jedna byla hnojena dusíkem v podobě dusičnanu vápenatého a druhá nebyla hnojena vůbec. Toto hnojení probíhalo ve dvou etapách, a to nejprve 14. března a pak i 10. dubna 2014, pokaždé v množství 100 kg N·ha<sup>-1</sup>. Celkové množství dusíku tedy odpovídalo 200 kg N·ha<sup>-1</sup>. Pšenice byla v době vegetace (květen – červenec) vystavena normální a zvýšené koncentraci CO<sub>2</sub> (700 μmol·mol<sup>-1</sup>). Dostupnost UV záření byla zajišťována pomocí materiálu komor, kterým byly dva typy transparentních materiálů. V jednom případě byl akrylát transparentní pro UV-A i UV-B záření, a ve druhém případě částečně propouštěl jen UV-A záření.

Pomleté obilí bylo použito pro kvalitativní analýzy, z nichž část byla provedena v akreditované laboratoři Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského v Brně (ÚKZÚZ), a zbylá část v laboratoři Fakulty chemické Vysokého učení technického v Brně.

Výsledky této práce potvrdily ovlivnění kvality pšeničného zrna působením zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub>, dusíkatého hnojení a sucha. Nejprůkaznější bylo ovlivnění zrna dusíkatou výživou, hnojení mělo pozitivní vliv na kvalitu zrna, došlo k nárůstu obsahu hrubých bílkovin, zvýšil se obsah lepku i hodnoty Zelenyho sedimentačního testu, a také číslo poklesu. V důsledku nárůstu obsahu bílkovin došlo také k poklesu obsahu škrobu.

Dále bylo prokázáno ovlivnění kvality zrna zvýšenou koncentrací CO<sub>2</sub>. Vlivem vyšší koncentrace oxidu uhličitého došlo k poklesům obsahu bílkovin i lepku, hodnot Zelenyho sedimentačního testu i čísla poklesu a naopak k nárůstu obsahu škrobu. Pokles hodnot Zelenyho sedimentačního testu vlivem zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> byl plně kompenzován dusíkatým hnojením.



## 7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Krauchi, N.: *Potential Impacts of a Climate Change on Forest Ecosystems*. European Journal of Forest Pathology **23**, 28 – 50, 1993.
- [2] Joos, F., Spahni, R.: *Rates of change in natural and anthropogenic radiative forcing over the past 20 000 years*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **105**, 1 425 – 1 430, 2008.
- [3] Canadell, J., Le Quere, C., *et al.*: *Contributions to accelerating atmospheric CO<sub>2</sub> growth from economic activity, carbon intensity, and efficiency of natural sinks*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **104**, 18 866 – 18 870, 2007.
- [4] NOAA (2015): *Recent global CO<sub>2</sub>*. [online] [cit. 2015-03-01]. Dostupné z WWW: <http://esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/global.html>
- [5] Hönlisch, B., Hemming, N. G., *et al.*: *Atmospheric carbon dioxide concentration across the Mid-pleistocene transition*. Science **324**, 1 551 – 1 554, 2009.
- [6] Smith, T. M., Cramer, W. P., *et al.*: *The global terrestrial carbon-cycle*. Water Air and Soil Pollution **70**, 19 – 37, 1993.
- [7] Farquhar, G. D., Lloyd, J., *et al.*: *Vegetation effects on the isotope composition of oxygen in atmospheric CO<sub>2</sub>*. Nature **363**, 439 – 443, 1993.
- [8] Gifford, R. M.: *The Global Carbon-Cycle – a Viewpoint on the Missing Sink*. Australian Journal of Plant Physiology **21**, 1 – 15, 1994.
- [9] Taylor, J. A., Lloyd, J.: *Sources and Sinks of Atmospheric CO<sub>2</sub>*. Australian Journal of Botany **40**, 407 – 418, 1992.
- [10] Nátr, L.: *Koncentrace CO<sub>2</sub> a rostliny*. ISV nakladatelství Praha. 2000.
- [11] portal.chmi.cz [online] [cit. 2015-03-10]. Dostupné z WWW: [http://portal.chmi.cz/files/portal/docs/meteo/ok/klimazmena/files/cc\\_chap05.pdf](http://portal.chmi.cz/files/portal/docs/meteo/ok/klimazmena/files/cc_chap05.pdf)

- [12] cs.wikipedia.org [online] [cit. 2015-03-10]. Dostupné z WWW: [http://cs.wikipedia.org/wiki/Sklen%C3%ADkov%C3%BD\\_efekt#/media/File:Schema\\_sklenikovy\\_efe kt.gif](http://cs.wikipedia.org/wiki/Sklen%C3%ADkov%C3%BD_efekt#/media/File:Schema_sklenikovy_efe kt.gif)
- [13] Srivastava, K. K. P.: *Thermodynamic model of global warming*. Curr. Science **75**, 1 374 – 1 380, 1998.
- [14] Dlugokencky, E. J., Masarie, K. A.: *Continuing decline in the growth rate of the atmospheric methane burden*. Nature **393**, 447 – 450, 1998.
- [15] Raynaud, D., Jouzel, J.: *The ice record of greenhouse gases*. Science **259**, 926 – 934, 1993.
- [16] www.veronica.cz [online] [cit. 2015-03-10]. Dostupné z WWW: <http://www.veronica.cz/?id=422>
- [17] www.meteocentrum.cz [online] [cit. 2015-03-10]. Dostupné z WWW: <http://www.meteocentrum.cz/zmeny-klimatu/sklenikovy-efekt.php>
- [18] Ambus, P., Robertson, G. P.: *Fluxes of CH<sub>4</sub> and N<sub>2</sub>O in aspen stands grown under ambient and twice-ambient CO<sub>2</sub>*. Plant Soil **209**, 1 – 8, 1999.
- [19] Cai, Z., Xing, G.: *Measurements of CH<sub>4</sub> and N<sub>2</sub>O emissions from rice paddies in Fengqiu, China*. Soil Sci. Plant Nutr. **45**, 1 – 13, 1999.
- [20] Saarnio, S., Silvola, J.: *Effects of increased CO<sub>2</sub> and N on CH<sub>4</sub> efflux from a boreal mire: a growth chamber experiment*. Oecologia **119**, 349 – 356, 1999.
- [21] Mosier, A. R.: *Soil processes and global change*. Biol. Fertil. Soils **27**, 221 – 229, 1998.
- [22] Ramanathan, V.: *The greenhouse theory of climate change: a test by an inadvertent global experiment*. Science **240**, 293 – 299, 1988.
- [23] IPCC: *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment. Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom a New York, 996, 2007.
- [24] Wolfe, D. W., Gifford, R. M.: *Integration of photosynthetic acclimation to CO<sub>2</sub> at the whole-plant level*. Global Change Biology **4**, 879 – 893, 1998.

- [25] Reich, P. B., Knops, J., *et al*: *Plant Diversity enhances ecosystem responses to elevated CO<sub>2</sub> and nitrogen deposition*. *Nature* **410**, 809 – 812, 2001.
- [26] Leuzinger, S., Körner, C.: *Water savings in mature deciduous forest trees under elevated CO<sub>2</sub>*. *Global Change Biology* **13**, 2 498 – 2 508, 2007.
- [27] Dietz, K.-J.: *An evaluation of light and CO<sub>2</sub> limitation of leaf photosynthesis by CO<sub>2</sub> gas-exchange analysis*. *Planta* **167**, 260 – 263, 1986.
- [28] Špunda, V., Kalina, J., *et al*: *Diurnal dynamics of photosynthetic parameters of Norway spruce trees cultivated under ambient and elevated CO<sub>2</sub>: the reasons of midday depression in CO<sub>2</sub> assimilation*. *Plant Science* **168**, 1 371 – 1 381, 2005.
- [29] Drake, B. G., Gonzales-Meler, M. A., Long, S. P.: *More efficient plants: A consequence of rising atmospheric CO<sub>2</sub>?* *Annu Rev. Plant Physiol. Plant Molecular Biology* **48**, 609 – 639, 1997.
- [30] Jarvis, P. G.: *European Forests and Global Change. The Likely Impacts of Rising CO<sub>2</sub> and Temperature*. Cambridge, Cambridge University Press, 383, 1998.
- [31] Urban, O.: *Physiological impacts of elevated CO<sub>2</sub> concentration ranging from molecular to whole plant responses*. *Photosynthetica* **41**, 9 – 20, 2003.
- [32] Ainsworth, E. A., Rogers, A.: *The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO<sub>2</sub>]: mechanisms and environmental interactions*. *Plant, Cell and Environment* **30**, 258 – 270, 2007.
- [33] Watling, J. R., Press, M. C.: *How is the relationship between C<sub>4</sub> cereal *Sorghum bicolor* and the C<sub>3</sub> root hemi-parasites *Striga hermonthica* and *Striga asiatica* affected elevated CO<sub>2</sub>?* *Plant, Cell and Environment* **20**, 1 292 – 1 300, 1997.
- [34] Arp, W., J.: *Effects of source-sink relations on photosynthetic acclimation to elevated CO<sub>2</sub>*. *Plant, Cell and Environment* **14**, 869 – 875, 1991.
- [35] Gloser, J., Barták, M.: *Net photosynthesis, growth rate and biomass allocation in a rhizomatous grass *Calamagrostis epigejos* grown at elevated CO<sub>2</sub> concentration*. *Photosynthetica* **30**, 143 – 150, 1994.

- [36] Saxe, H., Ellsworth, D., S., *et al*: *Tree and forest functioning in an enriched CO<sub>2</sub> atmosphere*. *New Phytol* **139**, 395 – 436, 1998.
- [37] Hrstka, M., Urban, O., Marek, M. V.: *Long-term effect of elevated CO<sub>2</sub> on spatial differentiation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activity in Norway spruce canopy*. *Photosynthetica* **43**, 211 – 216, 2005.
- [38] Košovcová, M., Urban, O., *et al*: *Photosynthetic induction in broadleaved Fagus sylvatica and coniferous Picea abies cultivated under ambient and elevated CO<sub>2</sub> concentrations*. *Plant Science* **177**, 123 – 130, 2009.
- [39] Sims, D. A., Luo, Y., *et al*: *Importance of leaf versus whole plant CO<sub>2</sub> environment for photosynthetic acclimation*. *Plant, Cell and Environment* **21**, 1 189 – 1 196, 1998.
- [40] Sims, D., Cheng, W., *et al*: *Photosynthetic acclimation to elevated CO<sub>2</sub> in a sunflower canopy*. *J. exp. Bot.* **50**, 645 – 653, 1999.
- [41] McMurtrie, R. E., Norby, R. J., *et al*: *Why is plant-growth response to elevated CO<sub>2</sub> amplified when water is limiting, but reduced when nitrogen is limiting? A growth-optimisation hypothesis*. *Functional Plant Biology* **35**, 521 – 534, 2008.
- [42] Luo, Y., Reynolds, J., *et al*: *A search for predictive understanding of plant responses to elevated [CO<sub>2</sub>]*. *Global Change Biology* **5**, 143 – 156, 1999.
- [43] Marek, M. V., *et al*: *Uhlík v ekosystémech České republiky v měnícím se klimatu*. Academia Praha 2011.
- [44] Gonzales-Meler, M. A., Siedow, J. N.: *Direct inhibition of mitochondrial respiratory enzymes by elevated CO<sub>2</sub>: does it matter at the tissue or whole-plant level?* *Tree Physiology* **19**, 253 – 259, 1999.
- [45] Zak, D. R., Pregitzer, K. S., *et al*: *Elevated atmospheric CO<sub>2</sub>, fine roots the response of soil microorganisms: A review and hypothesis*. *New Phytologist* **147**, 201 – 222, 2000.
- [46] Medlyn, B. E., Barton, C. V. M., Broadmeadow, M. S. J., *et al*: *Stomatal conductance of forest species after long-term exposure to elevated CO<sub>2</sub> concentration: a synthesis*. *New Phytologist* **149**, 247 – 264, 2001.

- [47] Peñuelas, J., Matamala, R.: *Changes in N and S leaf content, stomatal density and specific leaf area of 14 plant species during the last three centuries of CO<sub>2</sub> increase*. J. exp. Bot. **41**, 1 119 - 1 124, 1990.
- [48] Wrigley, C. W., Bietz, J. A.: *Proteins and amino acids*. In: Pommeranz, Y. (Ed.), *Wheat: Chemistry and Technology* **1**, 159 – 275, American Association of Cereal Chemists, St. Paul, 1988.
- [49] Wieser, H.: *Chemistry of gluten proteins*. Food Microbiology **24**, 115 – 119, 2007.
- [50] Wieser, H.: *The use of redox agents*. In: Cauvian, S. P. (Ed.), *Bread Making – Improving Quality*. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, 128 – 132, 2003.
- [51] Kulovaná, E.: *Kvalita obilnin*, 2002.
- [52] www.wmcinc.org [online] [cit. 2013-03-10]. Dostupné z WWW: [http://www.wmcinc.org/WMC\\_05\\_AnalyticalLab.html](http://www.wmcinc.org/WMC_05_AnalyticalLab.html)
- [53] www.perten.com [online] [cit. 2013-03-10]. Dostupné z WWW: [http://www.perten.com/Global/Images/Products/FN/FN\\_Applications%20bread\\_annan%20storlekw\\_508px.jpg](http://www.perten.com/Global/Images/Products/FN/FN_Applications%20bread_annan%20storlekw_508px.jpg)
- [54] Norma ČSN 46 1100-2: 2001. *Obiloviny potravinářské – Část 2: Pšenice potravinářská*. Praha: Český normalizační institut, 2001.
- [55] ÚKZÚZ: *Seznam doporučených odrůd*. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský se sídlem v Brně, Národní odrůdový úřad, Brno, 16 – 19, 2011.
- [56] Högy, P., Brunnbauer, M., et al.: *Grain quality characteristics of spring wheat (Triticum aestivum) as affected by free-air CO<sub>2</sub> enrichment*. Environmental and Experimental Botany **88**, 11 – 18, 2013.
- [57] Högy, P., Wieser, H., et al.: *Effects of elevated CO<sub>2</sub> on grain yield and quality of wheat: results from a 3-year free-air CO<sub>2</sub> enrichment experiment*. Plant Biology **11**, 60 – 69, 2009.
- [58] Wieser, H., Manderscheid, R., Erbs, M., Weigel, H. J.: *Effects of Elevated Atmospheric CO<sub>2</sub> Concentrations on the Quantitative Protein Composition of Wheat Grain*. J. Agric. Food Chem. **56**, 6 531 – 6 535, 2008.

- [59] Kimball, B. A., Morris, C. F., *et al.*: *Elevated CO<sub>2</sub>, drought and soil nitrogen effects on wheat grain quality*. *New Phytologist* **150**, 295 – 303, 2001.
- [60] Alonso, A., Pérez, P., Martínez-Carrasco, R.: *Growth in elevated CO<sub>2</sub> enhances temperature response of photosynthesis in wheat*. *Physiologia Plantarum* **135**, 109 – 120, 2009.
- [61] Fangmeier, A., *et al.*: *Effects on nutrient and on grain quality in spring wheat crops grown under elevated CO<sub>2</sub> concentrations and stress conditions in the European, multiple-site experiment 'ESPACE-wheat'*. *European Journal of Agronomy* **10**, 215 – 229, 1999.
- [62] Fernando, N., Panozzo, J., *et al.*: *Wheat grain quality under increasing atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations in a semi-arid cropping system*. *Journal of Cereal Science* **56**, 684 – 690, 2012.
- [63] Piikki, K., De Temmerman, L., Ojanperä, K., Danielsson, H., Pleijel, H.: *The grain quality of spring wheat (Triticum aestivum) in relation to elevated ozone uptake and carbon dioxide exposure*. *European Journal of Agronomy* **28**, 245 – 254, 2008.
- [64] Taub, D. R., Miller, B., Allen, H.: *Effects of elevated CO<sub>2</sub> on the protein concentration of food crops: a meta-analysis*. *Global Change Biology* **14**, 565 – 575, 2008.
- [65] Dijkstra, P., *et al.*: *Seasonal changes in the response of winter wheat to elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentration grown in open-top chambers and field tracking enclosures*. *Global Change Biology* **5**, 563 – 576, 1999.
- [66] Cloux, H. C. du, André, M., *et al.*: *Wheat response to CO<sub>2</sub> enrichment: growth and CO<sub>2</sub> exchanges at two plant densities*. *J. exp. Bot.* **38**, 1 421 – 1 431, 1987.
- [67] Batts, G. R., Morison, J. I. L., *et al.*: *Effects of CO<sub>2</sub> and temperature on growth and yield of crops of winter wheat over four seasons*. *Europ. J. Agronomy* **7**, 43 – 52, 1997.
- [68] Manderscheid, R., Weigel, H. J.: *Photosynthetic and growth responses of old and modern spring wheat cultivars to atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment*. *Agric., Ecosystems Environment* **64**, 65 – 73, 1997.
- [69] Wheeler, R. M., Mackowiak, C. L., *et al.*: *Supraoptimal carbon dioxide effects on growth of soybean (Glycine max (L) Merr.)*. *J. Plant Physiol* **142**, 173 – 178, 1993.

- [70] Habash, D. Z., Paul, M. J., *et al.*: *Increased capacity for photosynthesis in wheat grown at elevated CO<sub>2</sub>: the relationship between electron transport and carbon metabolism*. *Planta* **197**, 482 – 489, 1995.
- [71] Rogers, H. H., Dahlman, R. C.: *Crop responses to CO<sub>2</sub> enrichment*. *Vegetatio* **104/105**, 117 – 131, 1993.
- [72] Monje, O., Bugbee, B.: *Adaptation to high CO<sub>2</sub> concentration in an optimal environment: radiation capture, canopy quantum yield and carbon use efficiency*. *Plant, Cell and Environment* **21**, 315 - 324, 1998.
- [73] Smart, D. R., Ritchie, K., Bloom, A. J., Bugbee, B. B.: *Nitrogen balance for wheat canopies (*Triticum aestivum* cv. *Veery*) grown under elevated and ambient CO<sub>2</sub> concentrations*. *Plant, Cell and Environment* **21**, 753 – 763, 1998.
- [74] Wolf, J.: *Effects of nutrient supply (NPK) on spring wheat response to elevated atmospheric CO<sub>2</sub>*. *Plant Soil* **185**, 113 – 123, 1996.
- [75] Erbs, M., Manderscheid, R., *et al.*: *Effects of free-air CO<sub>2</sub> enrichment and nitrogen supply on grain quality parameters and elemental composition of wheat and barley grown in a crop rotation*. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **136**, 59 – 68, 2010.

## 8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

RUBISCO = ribulóza-1,5-bisfosfátkarboxyláza/oxygenáza

RuBP = ribulóza-1,5-bisfosfát

NIR = reflektance v blízké části infračerveného světla

NIT = transmittance v blízké části infračerveného světla

SDS = sedimentační test za použití dodecylsulfátu sodného v kyselině octové

Pi = anorganický fosfát

ATP = adenosintrifosfát

TPT = translokátor fosfátu

AGPáza = ADP-glukózapyrofosforyláza

NADPH = nikotinamidadeninukleotidfosfát (redukována forma)

HMW = vysokomolekulární podjednotky gluteninů

LMW = nízkomolekulární podjednotky gluteninů

UV- = podmínky bez přítomnosti UV záření

UV+ = podmínky s normálním UV zářením

WET = podmínky s normálními srážkami při pěstování

DRY = podmínky bez srážek při pěstování

AC = normální (ambient) koncentrace CO<sub>2</sub>

EC = zvýšená (elevated) koncentrace CO<sub>2</sub> (700 ppm)

N- = bez dusíkaté výživy

N+ = s dusíkatou výživou (200 kg·N·ha<sup>-1</sup>)