

**Česká zemědělská univerzita v Praze**  
**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**  
**Katedra ochrany rostlin**



**Vliv napadení osiva jarní pšenice *Fusarium* spp. na  
zdravotní stav porostu**

**Diplomová práce**

Autor práce: Bc. Markéta Venclová

Vedoucí práce: Doc. Ing. Evženie Prokinová, CSc.

© 2014 ČZU v Praze

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že diplomovou práci na téma Vliv napadení osiva jarní pšenice *Fusarium* spp. na zdravotní stav porostu jsem vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v příložené bibliografii.

V Praze dne:

Podpis autora práce:

## **Poděkování**

Nejprve bych ráda poděkovala vedoucí diplomové práce Doc. Ing. Evženie Prokinové, CSc. za odborné vedení a užitečné rady během realizace diplomové práce. Dále za pomoc v laboratoři, při diagnostice *Fusarium* spp. molekulární metodou a to paní Ing. Janě Mazákové, Ph.D. a Ing. Janě Wenzlové. Dále Výzkumné stanici v Praze – Uhřetěvesi a konkrétně panu Liborovi Mičákovi za pomoc při realizaci polního pokusu. Také děkuji paní Jaroslavě Vospělové za pomoc v laboratoři. Nakonec děkuji za podporu a pomoc ze strany mého přítele a samozřejmě rodiny.

## Souhrn

Stanovené cíle této diplomové práce jsou zaměřeny na nedostatek osiva pro ekologické zemědělství. Proto náplní této práce je zhodnocení, zda stanovené limity maximální kontaminace osiva *Fusarium* spp. nejsou pro praxi příliš vysoké.

Pokusy pro ověření vytyčených cílů byly prováděny na odrůdách pšenice jarní. Konkrétně se jedná o odrůdy SW Kadrijl, Trappe, Septima a Seance. U těchto odrůd byla část použitého osiva uměle inokulována houbou *Fusarium culmorum* a pro kontrolu a porovnání výsledků druhá část osiva byla bez inokulace, tzv. kontroly.

První část diplomové práce je věnována literárním údajům o pěstování pšenice jarní, chorobách a škůdcích, kteří pšenici mohou během vegetace poškozovat. Pozornost byla zaměřena na patogen přenosný osivem, tedy *Fusarium* spp. Současně práce zahrnuje i informace týkající se pěstování plodin v ekologickém zemědělství a požadavky na osivo.

Druhá část diplomové práce se zabývá použitými odrůdami pšenice jarní a konkrétními pokusy. V pokusech laboratorních, nádobových a polních byla sledována přítomnost *Fusarium culmorum* a jeho vliv na klíčení a vzcházení porostu v různých typech půd. Monitorován byl zdravotní stav rostlin ve všech vegetačních fázích rostlin. Pro nejpřesnější detekci *Fusarium culmorum* v pletivech rostlin bylo využito molekulárně-biologické metody.

Poslední část je věnovaná výsledkům, kde jsou vyhodnocena získaná data a graficky znázorněna. Výsledky této diplomové práce jsou následně porovnávány s výsledky jiných autorů v kapitole zvané diskuze.

Během dvou let byly pokusy zaměřené na *Fusarium culmorum* a jeho vliv na vzcházení a zdravotní stav jarní pšenice prováděny v laboratorních, nádobových a v polních podmínkách.

Výsledky laboratorních pokusů prokázaly přítomnost *Fusarium culmorum* v inokulovaném osivu. V původním osivu – bez inokulace přítomnost této houby nebyla prokázána.

Stejně osivo bylo využito i při nádobovém pokusu. V tomto případě umělá inokulace osiva *Fusarium culmorum* neměla vliv na vzcháživost a zdravotní stav porostu. Pro determinaci *Fusarium culmorum* v pletivech sklizených rostlin bylo využito metody PCR. Prokázaná přítomnost *Fusarium culmorum* byla pouze u odrůdy Trappe z inokulovaného osiva pěstované v zahradnickém substrátu.

Polní pokus byl založen v roce 2013 na parcelkách ve výzkumné stanici v Praze – Uhřetěvsi. Vyseto bylo stejné osivo jako v předchozích pokusech. Pokus probíhal jak na ploše

konvenční, tak na ploše ekologické. Po porovnání rostlin z obou stanovišť nebyl prokázán téměř žádný rozdíl. Porosty v žádné vegetační době nesignalizovaly přítomnost houby *Fusarium culmorum*. Pro potvrzení přesnosti symptomatické metody bylo využito metody molekulárně-biologické. Metoda PCR nepotvrdila přítomnost *Fusarium culmorum* v žádné variantě.

Na závěr lze říci, že v případě povrchové kontaminace osiva nemusí dojít k projevení choroby na rostlině. Pro zajištění přesnějších výsledků by bylo vhodné opakovat polní pokus na jiných stanovištích.

**Klíčová slova:** pšenice jarní, osivo, *Fusarium*, klíčivost, zdravotní stav

## Summary

The objectives of this thesis are focused on the lack of seeds in organic farming. Therefore, the scope of this work is to evaluate whether the limits on the maximum contamination of seeds *Fusarium* spp. are in practice too high.

Experiments to verify the targets were conducted on spring wheat varieties. Specifically, the variety Kadrij SW, Trappe, Septima and Seance. Part of these varieties of seeds was artificially inoculated with *Fusarium culmorum* and for the comparison of the results the second part of the seeds was without any inoculation, so called controls.

The first part of the thesis is devoted to the collected literature data on the cultivation of spring wheat diseases and pests that can damage wheat during vegetation. Attention was focused on the pathogen that is contagious by seeds, *Fusarium* spp. At the same time the thesis also includes information relating to the cultivation of crops in organic farming and seeds requirements.

The second part of the thesis deals with used spring wheat varieties and the specific experiments. In laboratory, field and container experiments was observed the presence of *Fusarium culmorum* and its effect on germination and sprouting crops in different soil types. Also the health of the plants was monitored in all vegetative stages. For accurate detection of *Fusarium culmorum* in plant tissues were used molecular biological methods.

The last section is devoted to the results. The collected data are evaluated and graphically presented. The results of this thesis are then compared with the results of other authors in the chapter called debate.

Over two years, experiments have been focused on *Fusarium culmorum* and its effect on germination and health status of spring wheat carried out in the laboratory, in the containers and in the field.

Results of laboratory experiments have shown the presence of *Fusarium culmorum* in the inoculated seeds. In the original seeds— without any inoculation the presence of this fungus has not been demonstrated .

The same seeds were also used in the container experiment. In this case, the artificially inoculated seeds with *Fusarium culmorum* had no effect on germination and health of the crop. For determination of *Fusarium culmorum* in the tissues of harvested plants was used PCR method. The presence of *Fusarium culmorum* was only demonstrated in the inoculated seeds of the Trappe variety grown in the horticultural substrate.

Field experiment was established in 2013 in the plots in the research station in Prague - Uhřetěves. The same seeds were sown as in previous experiments. The experiment was cultivated in a conventional and ecological way. There was not find any evidence of any difference after comparing plants from both habitats. Crops did not indicate the presence of fungi *Fusarium culmorum* in any time of their vegetation. To confirm the accuracy of the symptomatic methods were used molecular biological methods. The PCR method did not confirm the presence of *Fusarium culmorum* in any variant.

In conclusion, in the case of surface contamination of seeds the disease does not have to manifest in later stage of the plant. To ensure accurate results would be propriety to repeat field experiment on other plots.

**Keywords :** spring wheat, seeds, *Fusarium*, germination, health condition

# Obsah

1 Úvod.....	1
2 Hypotéza a cíl práce.....	2
2.1 Hypotéza .....	2
2.2 Cíl práce .....	2
3 Přehled literatury.....	3
3.1 Pšenice jarní ( <i>Triticum aestivum</i> ) .....	3
3.1.1 Základní charakteristika.....	3
3.1.2 Požadavky na pěstování.....	4
3.1.3 Ochrana proti plevelům .....	5
3.1.4 Choroby a škůdci .....	5
3.1.5 Posklizňová úprava .....	6
3.1.6 Osivo pšenice jarní.....	7
3.2 Fuzariózy na pšenici .....	10
3.2.1 Charakteristika rodu <i>Fusarium</i> .....	10
3.2.2 Původ a příznaky klasových fuzarióz .....	11
3.2.3 Nežádoucí produkty <i>Fusarium</i> spp. – mykotoxiny .....	12
3.2.4 Ochrana proti <i>Fusarium</i> spp. ....	13
3.3 Ekologické zemědělství .....	17
3.3.1 Zásady pěstování rostlin v ekologickém zemědělství.....	18
3.3.2 Pšenice jarní pěstovaná v podmínkách ekologického zemědělství .....	19
3.4 Osivo v podmínkách ekologického zemědělství .....	20
4 Materiál a metody .....	24
4.1 Materiál.....	24
4.1.1 Odrůdy jarní pšenice použité v této práci .....	24
4.1.2 Izolát <i>Fusarium culmorum</i> .....	24
4.1.3 Charakteristika stanoviště polního pokusu .....	25



4.1.4 Cíle pokusů této diplomové práce .....	25
4.2 Metodika .....	26
4.2.1 Metoda hodnocení vitality osiva v laboratorních podmínkách.....	26
4.2.2 Metodika skleníkového (nádobový) pokusu .....	27
4.2.3 Metodika polního pokusu .....	29
4.2.4 Metoda detekce <i>Fusarium culmorum</i> v rostliném pletivu .....	30
5 Výsledky .....	35
5.1 Hodnocení použitého osiva pšenice jarní .....	35
5.2 Hodnocení skleníkového (nádobového) pokusu.....	38
5.3 Hodnocení polního pokusu .....	47
5.4 Hodnocení sklizeného osiva pšenice jarní .....	53
6 Diskuze .....	55
7 Závěr .....	58
8 Seznam literatury .....	59
9 Seznam použitých zkratk a symbolů.....	65
10 Samostatné přílohy .....	66
10.1 Statistické výsledky .....	66
10.2 Fotografie.....	69

# 1 Úvod

Rod *Fusarium* patří mezi nejnebezpečnější původce onemocnění obilnin. V případě napadení porostu se výrazně snižuje výnos, ale hlavně dochází ke kontaminaci a infekci osiva a jeho znehodnocení. Proto je důležité používat osivo certifikované, kde je zajištěna vysoká klíčivost a zdravotní nezávadnost.

Pro zvyšování kvality osiva a jeho ochranu proti škodlivým organismům se v dnešní době v konvenčním zemědělství využívá moření osiva chemickými přípravky. Je to metoda velmi účinná, avšak v ekologickém zemědělství zakázaná.

Právě ekologické zemědělství dosahuje v současné době nejen v České republice, ale i ve světě velkého růstu. Jedním z důvodů je zvýšená poptávka společnosti po ekologických, nezávadných potravinách neboli biopotravinách. Dalším důvodem rozvoje ekologického zemědělství je omezení negativních vlivů na životní prostředí, necílové organismy a zdraví člověka. I přes všechny pozitivní vlastnosti ekologického zemědělství není možné tímto druhem zemědělství zajistit dostatek kvalitních potravin pro celou populaci. Jedním z mnoha důvodů je i nedostatek osiva, který je ještě snižován stanovenými limity výskytu určitých patogenů v osivu.

Z toho důvodu byl cíl této diplomové práce stanoven na posouzení zmíněných limitů patogenů v osivu a následné potvrzení nebo vyvrácení jejich opodstatněnosti. Sledovaná byla především klíčivost, vzcházivost osiva a zdravotní stav porostů se zaměřením na rod *Fusarium* ve všech růstových stádiích pšenice jarní.

## **2 Hypotéza a cíl práce**

### **2.1 Hypotéza**

Přítomnost *Fusarium* spp. v/na osivu jarní pšenice může mít za následek zhoršenou klíčivost a vzcházivost osiva. Praktické zkušenosti ukázaly, že i ze silně kontaminovaného osiva může vyrůst nenapadený porost. Nelze vyloučit, že v případě jarní pšenice pro ekologické zemědělství je stanovený limit *Fusarium* spp. v/na osivu zbytečně nízký.

### **2.2 Cíl práce**

Potvrdit nebo vyvrátit opodstatněnost limitu pro výskyt *Fusarium* spp. v/na osivu jarní pšenice pro ekologické zemědělství.

## 3 Přehled literatury

K nejstarším zdrojům potravy obyvatel naší planety patří obilniny. Jsou to plodiny, které obsahují řadu životně důležitých látek. Proto jsou nezastupitelnou součástí výživové složky lidské populace (Prugar a kol., 2008).

Obilniny řadíme z taxonomického hlediska do čeledi *Poaceae* – lipnicovité. Součástí této čeledi je mnoho významných zemědělských plodin. Patří sem například pšenice setá – *Triticum aestivum*, pšenice dvouzrnka – *Triticum dicoccum*, pšenice jednozrnka – *Triticum monococcum*, ječmen obecný – *Hordeum vulgare*, žito seté – *Secale cereale*, oves setý – *Avena sativa*, ale i kukuřice setá – *Zea mays* nebo rýže setá – *Oryza sativa*.

Nezastupitelnou roli má i pšenice jarní. Stejně jako ostatní zemědělské plodiny je ovlivňována mnoha vnějšími faktory. Vliv na růst a vývoj plodiny nemají jen faktory abiotické, ale i biotické. Mezi ně řadíme živočichy, houby a viry.

Tato práce je zaměřena na oblast hub, konkrétně na rod *Fusarium*, který je řazen mezi závažné patogeny řady plodin. Nejenom, že může ovlivňovat výnosy plodin, ale také produkovat nežádoucí látky, známé jako mykotoxiny. Ty mohou mít za následek kontaminaci potravin a následně mít negativní vliv na zdraví lidí.

Přítomnost těchto hub v porostu je přísně sledována. Pro detekci patogenu lze využít mnoho různých metod. Nejčastější metodou, využívanou přímo v porostu, je metoda symptomatická. U té je potřeba mít již nějaké znalosti v určování poškození rostlin pouhým okem. Další metodou je metoda mikroskopická a dále dnes jedna z nejpřesnějších metod, metoda molekulárně - biologická. Všechny zmíněné metody budou v této práci použity k detekci *Fusarium* spp. v rostlinném materiálu.

### 3.1 Pšenice jarní (*Triticum aestivum*)

#### 3.1.1 Základní charakteristika

Mezi obilninami je pšenice jarní řazena mezi doplňkové plodiny. Nárůst jejích ploch nastává v období, kdy nastaly nevhodné podmínky pro zasetí ozimé pšenice nebo v případě vymrznutí ploch pšenice ozimé. Z čehož plyne, že plochy jarní pšenice se každý rok mění (Benada a kol., 2001).

V běžném roce se plochy pšenice jarní pohybují na hranici 50 tisíc hektarů. Její vegetační doba je kratší z čehož vyplývá, že má nižší kompenzační schopnost. V roce s příznivými podmínkami lze dosáhnout stejných výnosů jako u pšenice ozimé.

Naopak v období s nepříznivými podmínkami mohou výnosy silně kolísat (nepříznivé povětrnostní podmínky v době vzházení). Pak je výnos zhruba o 20 % nižší než u ozimé pšenice (Horáková, 2012).

Stejně jako ozimou pšenici, lze pšenici jarní využít k potravinářským, krmným a technickým účelům (Benada a kol., 2001).

### 3.1.2 Požadavky na pěstování

Půdní a klimatické podmínky, které pšenice jarní vyžaduje, jsou téměř shodné s podmínkami ozimé pšenice. Pouze ve vlhčích oblastech řepářských a bramborářských mívá pšenice jarní vyšší výnosy než pšenice ozimá. Naopak v teplejších oblastech s vyššími výnosy se vyznačuje ozimá pšenice. V případě vyššího výskytu ozimých plevelů jako je například chundelka metlice – *Apera spicaventi* je vhodné zařadit po ozimé pšenici právě jarní pšenici a tím docílit nižšího výskytu těchto plevelů (Benada a kol., 2001).

V osevním postupu je stejně náročná jako pšenice ozimá. Dobrých výnosů lze dosáhnout i po méně vhodných předplodinách v případě s vyšší intenzitou pěstování (Lekeš, 1988). To ve své publikaci uvádí i Benada a kol. (2001) a současně uvádí, že výsev je vhodný po pozdě sklizených předplodinách jako je cukrovka, okopaniny, popřípadě po kukuřici na siláž. Nejvyšší výnosy byly dosaženy po okopaninách.

V případě osevního postupu s vysokým podílem obilnin je možné vliv nevhodné předplodiny vyrovnat mezplodinou (Benada a kol., 2001).

Lekeš (1988) uvádí, že půda by měla mít drobtovitou strukturu s dostatkem živin a vhodným vláhovým režimem. To ve své publikaci potvrzuje i Benada a kol. (2001) a uvádí, že zimní zásoby vody ovlivňují dobrý vývin kořenové soustavy, neboť kořenový systém jarní pšenice je slabší oproti jiným obilninám. Pro dodržení těchto požadavků je důležité zaorání předplodiny ještě na podzim a během jarních příprav provést jen mělké nakypření branami.

Pro dosažení požadovaných výnosů je nezbytné provést raný výsev a to v případě včasného nástupu jara s delší vegetační dobou bez vysokých teplot, především v době dozrávání (Benada a kol., 2001).

Základem výživy pšenice jarní je hnojení dusíkem, fosforem a draslíkem. Množství těchto prvků by mělo být na stanoviště dodáváno v poměru 1 : 1 : 1,5. Celková dávka dusíku se rozděluje na 1/2 či 2/3, ta se do půdy zapravuje před setím. Zbývá 1/2 či 1/3 se aplikuje během vegetace, konkrétně na konci odnožování a na

začátku sloupkování. U fosforu a draslíku se celková dávka zapravuje do půdy před setím (Benada a kol., 2001).

### 3.1.3 Ochrana proti plevelům

V obilninách je sledován největší výskyt chundelky metlice – *Apera spica-venti*, ježatky kuří nohy – *Echinochloa crus-galli*, pcháče osetu – *Cirsium arvense*, pýru plazivého - *Elytrigia repens*. Proti nim lze provést účinnou ochranu pomocí herbicidů se specifickou účinnou látkou (Benada a kol., 2001).

### 3.1.4 Choroby a škůdci

Benada a kol. (2001) ve své publikaci rozdělil choroby na choroby přenášené obilkou, kam patří zejména sněti mazlavé – *Tilletia caries*, *Tilletia controversa*, *Fusarium* spp. a původci chorob vyskytujících se během vegetace, k nim lze zařadit padlí travní – *Blumeria graminis*, rzi – *Puccinia* spp., černání pat stébel – *Gaeumannomyces graminis*, fusariózy klasů – *Fusarium* spp.

Rod *Fusarium* je velmi rozsáhlý a onemocnění může způsobovat hned několik druhů, které jdou někdy velmi těžko rozpoznat. Benada a kol. (2001) poukazuje na druh *Fusarium graminearum*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium nivale* a nejčastější *Fusarium culmorum*. Napadené klasy jsou charakteristické narůžovělými povlaky. Zástupci tohoto rodu nenapadají jen klasy, ale také listovou čepel a kořeny. Výskyt těchto hub v klasech je podporován především deštivým počasím a vysokými teplotami. Napadeny mohou být všechny druhy obilnin a zdrojem bývá osivo nebo půda s posklizňovými zbytky. To potvrzuje i Parry et al. (1995) a současně tvrdí, že primárním zdrojem choroby mohou být také plevele, ale jako hlavní zdroj uvádí již napadené rostlin.

Horáková a kol. (2012) prokazují pokusem, který probíhal v letech 2008 – 2011 odolnost některých odrůd pšenice jarní k *Fusarium* spp. Hodnocení podle stupnice od 1 – 9, kdy 1 značí úplnou náchylnost k napadení a naopak 9 značí úplnou odolnost. Odrůda SW Kadrilj, Seance a Trappe jsou hodnoceny číslem 3, což znamená vysokou náchylnost. Pouze odrůda Septima byla označena 6, značící vyšší odolnost než u předchozích odrůd.

Napadené obilky již mohou obsahovat nežádoucí mykotoxiny. Chemická ochrana je zde velmi problematická, není znám přesný termín infekce. Oproti tomu

v pokusech, kde je provedeno očkování, je ochrana velmi účinná (Benada a kol., 2001).

Cullison (1999) potvrzuje, že nejčastější onemocnění spojené s *Fusarium* jsou na rostlinách běžná. Houby jsou především původci kořenových hnilob a cévního vadnutí polních plodin jako jsou brambory, rajčata, a mladé obilí pšenice, oves, ječmen, žito.

Trail (2007) uvádí, že rod *Fusarium* představuje nejvýznamnější skupinu houbových patogenů rostlin, což způsobuje různé nemoci na téměř každé hospodářsky významné rostlině. Stejně znepokojující je ohrožení zdraví, které představuje pro člověka a hospodářská zvířata velké množství fuzariových mykotoxinů.

Některé druhy *Fusarium* jsou schopny produkovat toxiny a kontaminovat tak osivo. Z toho důvodu neustále roste intenzita sledování a studování fuzariových toxinů na celém světě. Byly stanoveny limity deoxynivalenolu ve vykupovaném obilí. Hodnoty nesmí přesahovat 1250 µg/kg. Kontaminované osivo fuzárii se zvýšeným DON se vyznačuje sníženou klíčivostí, která má negativní vliv na výnos (Prokinová a kol., 2011).

### 3.1.5 Posklizňová úprava

Samsonová (2012) klade velký důraz na termín sklizně a další manipulaci s osivem. S tím úzce souvisí podmínky skladování sklizeného osiva.

U sklizeného materiálu je důležité určit průběžnou vlhkost a čistotu osiva (Benada a kol., 2001). Právě vlhkost vzduchu a teplota stanovuje podmínky pro nežádoucí mikroorganismy. Příležitostné fakultativní mikroorganismy se mohou začít množit při vysoké teplotě a vzdušné vlhkosti (Samsonová, 2012). Z těchto informací pak dále můžeme rozhodnout o dalším průběhu ošetření a následně i roztřídění materiálu. Nedodržením těchto postupů vzniká nehomogenní materiál (Benada a kol., 2001).

Je nutné provzdušnit již zrno, které má vlhkost nad 18 %. V tomto případě využijeme středtlaké radiální ventilátory připojené na provzdušňovací kanály. Vlhčí zrna jsou citlivější k teplotě, proto se používají sušárny, které jsou schopny zrno zchladit na teplotu o 5 – 10 °C vyšší, než je teplota okolního prostředí (Benada a kol., 2001).

Další metodou je chemická konzervace na bázi kyseliny propionové, která je z hlediska krmných zrnin velmi spolehlivá i při vysoké vlhkosti zrna. Naopak u

potravinářského zrna je tato metoda nevhodná z hlediska hygienického. V neposlední řadě jsou zde vysoké náklady na konzervační přípravek (Benada a kol., 2001).

Dále můžeme využít metodu teplovzdušného sušení. Tu je výhodné využít u nejvlhčího zrna. Za nepříznivých podmínek během sklizně je vhodné kombinovat všechny metody (Benada a kol., 2001).

Skladování je zajištěno v podlahových skladech bez větracího zařízení, kde je podstatná výška násypu. Ta se odráží od doby skladování, stavu zrna a možnostech skladu. Omezená výška je u vlhkého zrna, ta by měla být nižší, jelikož zrno je neustále biologicky aktivní. Naopak u suchého zrna je výška neomezená. U čerstvého zrna musí být výška násypu o 20 cm nižší bez ohledu na poškození nebo zralost (Benada a kol., 2001).

Posklizňová úprava stanoviště spočívá v odstranění posklizňových zbytků, na kterých přežívá velké množství patogenních hub. Tyto zbytky jsou zapravovány do půdy zemědělskou technikou a tím dochází k ovlivňování vláhového režimu a provzdušnění půdy. Ty mají za následek pozitivní ovlivnění funkčnosti kořenů a do určité míry je ovlivněn i mikrobiální život v půdě. Čím více rodů a druhů hub v půdě žije, tím se snižuje pravděpodobnost přemnožení jednoho z nich (Samsonová, 2012). Toto preventivní opatření se využívá v konvenčním zemědělství, ale jeho nezastupitelné místo je v ekologickém zemědělství.

### **3.1.6 Osivo pšenice jarní**

Provenience osiva má vliv na klíčivost, vzcházivost, zdravotní stav osiva, ale hlavně na vitalitu další generace (Samsonová, 2012).

Honsová a kol. (2013b) uvádí, že podstatou úspěšně založeného porostu je kvalitní osivo s vysokou klíčivostí. Tu lze stanovit v optimálních laboratorních podmínkách. Kvalitu osiva lze přesně definovat biologickou hodnotou osiva, neboli vitalitou.

Chloupek (2013) definuje kvalitu osiva jako vztah mezi osivem a porostem ze kterého pochází. Počátek toho vztahu nastává bobtnáním semen. Nežádoucí je příliš rychlé vzejití, z důvodu možnosti praskání semen a tím vytvořením vstupní brány pro řadu mikroorganismů.

Kvalita osiva je zajištěna odrůdovou pravostí, odrůdovou čistotou a odrůdovou kvalitou, která je dána genetickými vlastnostmi. Dalšími ukazateli kvality osiva jsou klíčivost, vitalita osiva, čistota osiva a na závěr zdravotní stav (Chloupek, 2013).



Zmíněné ukazatele kvality osiva jsou součástí certifikace osiv a je možné je využít pro stanovení výsevku. Na stanovenou kvalitu osiva v praxi spoléhá pěstitel (Finch-Savage, 2004).

Při stanovení kvality osiva se hodnotí čistota, hmotnost tisíce semen a laboratorní klíčivost. Kvalita osiva je v úzké interakci s konečným výnosem pěstované plodiny. Z toho důvodu je klíčivost semen upravena vyhláškou č. 129/2012 Sb. o podrobnostech uvádění osiva a sadby do oběhu a stanovuje minimální procento klíčivosti. U pšenice je procentuální hranice klíčivosti stanovena na 85 % (Honsová a kol., 2013c).

Pazderů a Hosnedl (2011) uvádí, že osivo s vysokou klíčivostí, ověřenou v laboratorních podmínkách, nemusí mít vysokou klíčivost v praxi. V polních podmínkách klíčivost osiva většinou nedosáhne maximální možné klíčivosti. To je způsobené vlivem nežádoucích faktorů jako je nevhodná teplota, vláhový režim půdy, špatné fyzikální vlastnosti půdy apod. Proto pro pěstitelskou praxi je nezbytná znalost polní vzcházivosti rostlin.

To potvrzuje i Gilbert et al. (1997) a současně uvádí, že klíčivost je ovlivněna také teplotou, dobou skladování a patogeny. Klíčivost zdravého osiva vyžaduje průměrnou teplotu okolo 14 – 18 °C, naopak u osiva infikovaného patogeny bylo zjištěno, že osivo velmi dobře klíčí i při teplotě 5 °C.

Pro objektivní stanovení kvality osiva by měla být hodnocena společně s klíčivostí také vitalita osiva (Pazderů a Hosnedl, 2011). Tu lze definovat jako součet vlastností semen, které stanovují stupeň aktivity a projevu semen během klíčení a vzcházení (Hampton and Tekrony, 1995). Vhodná metoda pro stanovení vitality osiva je energie klíčivosti, charakterizující fyziologickou klíčivost osiva. Vyhodnotit ji lze podle metodiky ISTA v prvním termínu počítání klíčivosti (Pazderů a Hosnedl, 2011).

Infikované osivo je primárním zdrojem choroby. Fytopatogenní houby mohou infikovat osivo od doby kvetení až do úplné zralosti zrna. Nejnáchylnější k napadení jsou semena s nedostatečně vyžralými pletivý. Patogenní organismy nemusí být v na semeni viditelné pouhým okem. Houby tvořící plodničky, jako je rod *Septoria*, mohou být odhaleny již pod binokulární lupou. Přesto většina hub jako *Fusarium* je viditelná pouze pod mikroskopem (Prokinová, 2003).

Prokinová (2003) uvádí, že infikovaná osiva jsou zdrojem primární infekce, mohou být šířena do nových oblastí. Výskyt nežádoucích houbových patogenů zvyšuje:

- Používání neuznaného osiva

- Nekvalitně založený porost
- Neodstraněné rostlinné zbytky a pěstování stejné plodiny více let po sobě
- Minimalizace zpracování půdy
- Nedostatečná ochrana během vegetace
- Nevhodné podmínky (nadměrné množství srážek, špatné lokality)

## 3.2 Fuzariózy na pšenici

### 3.2.1 Charakteristika rodu *Fusarium*

Jedná se o houby rodu *Fusarium*, které jsou řazeny mezi významné patogeny většiny zemědělských plodin (Širůčková a kol., 2007). To potvrzuje ve svém článku i Prokinová (2013b) a současně uvádí, že je popsáno zhruba 250 druhů těchto hub. Rod zahrnuje jak druhy fytopatogenní, tak saprofytické.

Právě houby rodu *Fusarium* jsou celosvětově nejrozšířenějšími patogeny obilnin (Desjardins, 2006).

Širůčková a kol. (2007) uvádí, že *Fusarium* spp. u pšenice napadají paty stébel, listy a hlavně klasy. Napadení klasů je řazeno mezi nejvýznamnější onemocnění pšenice, které způsobuje ztráty na výnosech, nízkou klíčivost osiva a snižuje pekařskou kvalitu zrna. Současně Prokinová (2013b) uvádí, že *Fusarium* může obilniny napadnout po celé období vývoje. Zrna z takto napadených rostlin neklíčí nebo jsou klíčky oslabeny a může dojít k úplnému odumření. S tím souvisí vyhláška č. 129/2012 o podrobnostech uvádění osiva a sadby do oběhu. U uznaného osiva pšenice je stanoven maximální limit zrn napadených *Fusarium* spp. na 10 %.

Chrprová a kol. (2007) uvádí, že při napadení klasu *F. graminearum* a *F. culmorum* dochází v zrně k tvorbě nebezpečných mykotoxinů. Právě tyto dva druhy Mesterházy (2003) uvádí jako nejčastěji se vyskytující druhy rodu *Fusarium* v Evropě. Bottalico and Perrone (2002) uvádí, že může docházet ke změně profilu druhu *Fusarium* od oblasti k oblasti. Změnu druhů *Fusarium* spp. v určité oblasti řídí klimatické podmínky. Doohan et al. (2003) potvrzuje, že výskyt *Fusarium* spp. je dán klimatickými podmínkami v různých geografických lokalitách. Parry et al. (1995) uvádí, že druh *Fusarium culmorum* dominuje v oblastech chladnějších a vlhčích a druh *Fusarium graminearum* se vyskytuje v oblastech s teplejšími a suššími. Doohan et al. (2003) dodává, že i *Fusarium poae* a *Fusarium avenaceum* běžné jak na pšenici, tak na ječmeni dominují v oblastech chladnějších a přímořských. Například v oblastech Velké Británie. Nedělník a kol. (2007) uvádí, že v pokusech v Troubsku byl potvrzen výskyt *Fusarium graminearum*. I přesto, že počasí z počátku bylo chladné a vlhké, velmi teplé počasí na konci vegetaci stačilo k podpoření výskytu *Fusarium graminearum*.

Chrpová a kol. (2007) konstatuje, že na množství nežádoucích látek jako jsou mykotoxiny mají vliv především klimatické podmínky během růstu a hlavně v období květu.

### 3.2.2 Původ a příznaky klasových fuzarióz

V České republice se objevuje zhruba 15 druhů rodu *Fusarium* a *Microdochium nivale*, dříve známé jako *Fusarium nivale*. Nejčastějšími druhy jsou *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium avenaceum* (Chrpová kol., 2007).

Kúdela a kol. (2012) rozděluje choroby vyvolané *Fusarium* spp. do několika skupin podle místa napadení hostitelské rostliny. Obecnou krčkovou a kořenovou hnilobu pšenice může způsobovat *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium poae*. Onemocnění růžovění klasů pšenice může způsobit *Fusarium graminearum*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium poae*, *Fusarium culmorum*.

Širůčková a kol. (2007) uvádí, že primární napadení se projeví hnědými vodnatými skvrnami na pluchách. Postupné prorůstání houby způsobuje přerušení cévních svazků a tím dojde ke zbělení jednotlivých klásků. To potvrzuje i Chrpová a kol. (2007) a současně uvádí, že primární příznaky se objeví asi týden po napadení. Další napadení se po určité době projeví tvorbou bílého nebo růžového mycelia. Zrna napadená fuzarií jsou drobná, sraštělá a při silné infekci jsou porostlá myceliem (Širůčková a kol., 2007).

Zdrojem infekce jsou posklizňové zbytky v půdě či napadené neošetřené osivo. Houba v půdě může přežívat ve formě mycelia 18 měsíců i více (Chrpová a kol., 2007). Její výskyt může být podpořen nevhodným osevním postupem, kde je zastoupeno vysoké množství obilovin. Dále je výskyt choroby podporován vysokým výsevkem, hustými porosty a přehnojením dusíkem (Širůčková a kol., 2007).

K napadení fuzariózami bývá pšenice nejnáchylnější v době květu. Jejich výskyt je podporován vysokou vzdušnou vlhkostí a teplotou. Zdrojem vlhkosti jsou dešťové srážky, obvykle stačí i krátké přeháňky, střídavé se slunečním zářením. Ideálním prostředím pro rozvoj choroby jsou uzavřené lokality, údolí a oblasti v blízkosti řek či jiných vodních toků (Chrpová a kol., 2007).

V jarním období se na infikovaných zbytcích hostitelských rostlin vytváří askospory. Ty během května a června dozrají a pomocí srážek jsou uvolněny do

okolního prostředí a stávají se zdrojem primární infekce. Zhruba po 3 – 5 dnech jsou šířeny na velké vzdálenosti pomocí větru. Po infikování klasů pšenice těmito askospórami dochází k pronikání mycelia přes prašníky do jednotlivých květů (Širůčková a kol., 2007).

Chrpová a kol. (2007) uvádí, že patogen rodu *Fusarium* se může šířit na další klasy i po kvetení, kdy jsou porosty nejvýmavější k napadení touto houbou. Přesto šíření tohoto patogenu na další klasy a jeho následné prorůstání do obilky může nastat i později, jak v době zelených klasů, tak až do období sklizně. Při pozdější infekci patogen méně prorůstá do obilky. Může zůstat jen na povrchu nebo proroste jen do osemení. Problém z hlediska mykotoxinů nastává, když houba pronikne až do endospermu zrna. Silně infikované osivo *Fusarium* spp. se vyznačuje změnou barvy a mechanické pevnosti.

Růst, přežití, šíření a výskyt rodu *Fusarium* a závažnost onemocnění ovlivňují klimatické faktory a hostitel. Vliv klimatických faktorů na onemocnění *Fusarium* může být různý. Záleží na tom jak druhy *Fusarium* reagují na variabilitu životního prostředí a to převážně na teplotu a vlhkost. Z pohledu hostitele je náchylnost k chorobám ovlivněna teplotou a osmotickým stresem (Doohan et al., 2003).

Teplota, vlhkost, intenzita světla, ale hlavně povětrnostní podmínky rozhodují o produkci a rozšiřování nepohlavních konidií nebo pohlavních askospór *Fusarium* spp. do prostředí. Zmíněné klimatické faktory naznačují kritické šíření a přežití těchto hub (Doohan et al., 2003).

Desjardins (2006) zdůrazňuje, že onemocnění touto houbou způsobuje velké problémy. Napadený porost *Fusarium* spp. snižuje kvalitu zrna a současně způsobuje ztráty na výnosech, které se následně odráží v celosvětových ekonomických ztrátách.

Detekce konkrétních druhů rodu *Fusarium* je velmi problematická. Ve většině případů pro determinaci konkrétního druhu se využívá mikroskopické metody nebo molekulárně-biologické. Jinou metodu uvádí Leslie and Summerell (2006), kde je možné druhy rodu *Fusarium* rozlišit pomocí znaků zjištěných na bramborovo-dextrosovém agaru, bramborovo-sacharózovém agaru nebo pomocí vodního agaru s filtračním papírem.

### **3.2.3 Nežádoucí produkty *Fusarium* spp. – mykotoxiny**

Většina fytopatogenních organismů proniká do rostlinných pletiv vyvinutými mechanismy. Mezi ně například patří produkce toxických látek (Houba, 2002). Tyto

sekundární metabolity některých patogenních hub nejsou jen problémem teplokrevných živočichů, ale právě i většiny zemědělských plodin. Látky produkované těmito nežádoucími organismy mohou pronikat do semen. U takto kontaminovaného zrna dochází ke snížení klíčení a vzházivosti plodin (Samsonová, 2012). Jak ale zmiňuje Houba (2002), působení fytopatogenních hub nemusí mít vždy vliv na nižší klíčivost, ale až na vzházivost rostlin. Příkladem je rod *Fusarium* nebo druh *Bipolaris sorokiniana*.

Konkrétně lze fuzariové toxiny definovat jako sekundární metabolity s výraznou toxicitou pro teplokrevné organismy. Příznakem jsou například plicní otoky, bolesti hlavy, nevolnost, poškození jater a ledvin, problémy se srážlivostí krve (Prokinová, 2013b). To potvrzuje i Doohan et al. (2003) a konstatuje, že mykotoxiny způsobují zdravotní riziko až když je kontaminované zrno použito do potravinářských výrobků.

Prokinová (2013b) uvádí, že jde o skupiny trichothecenů, zearalenonů, fumonisinů nebo také růstové látky jako gibereliny. Jejich negativní vliv byl již prokázán i na některé druhy hmyzu a klíčivost semen. Produkce těchto nežádoucích látek je podmíněna podmínkami prostředí.

Zachariášová a Hajšlová (2009) uvádí, že tvorba mykotoxinů nemusí být závislá na růstu mycelia. Produkce těchto nežádoucích látek je dána klidovým obdobím houby nebo v době, kdy houba zpomaluje svůj růst. Jedná se o obranou reakci vůči ostatním vláknitým a houbám a bakteriím. Produkce mykotoxinů může být vyvolána nejrůznějšími stresovými faktory. Zastoupenost jednotlivých mykotoxinů je dána typem substrátu, kolonizací substrátu fuzárií a nakonec chemotypem fuzarií, který na daném území převládá. V minulosti v Evropě převládal mykotoxin deoxynivalenol (DON) produkovaný fuzárií.

Problémy vznikající kontaminací potravin a krmiv toxiny produkovanými houbami rodu *Fusarium*, vedly společnost k vytvoření opatření, stanovení limitů toxinů v plodinách legislativně. Jedním z těchto nařízení je nařízení Komise (ES) č. 1881/2006, které stanovuje limity některých kontaminovaných látek v potravinách ve znění nařízení Komise (ES) č. 1126/2007 (Prokinová, 2013b).

### **3.2.4 Ochrana proti *Fusarium* spp.**

Existuje celá řada metod ochrany rostlin, které se dají použít. V dnešní době je důležité používat systém integrované ochrany. Což zmiňuje i Prokinová (2013b)

především u rodu *Fusarium*, kdy ochrana před tímto houbovým onemocněním by měla být řešena komplexně, nikoli samostatnými dílčími metodami ochrany, vyznačujícími se nedostatečnou účinností.

Ackerman a kol. (2013) definují Integrovanou ochranu rostlin jako systém, který využívá ekonomických, ekologických a toxikologických metod pro udržení škodlivých organismů pod prahem škodlivosti s přednostním využíváním přirozených metod. Její zásady jsou zpracovány v unijní a národní legislativě.

Metody ochrany můžeme rozdělit na přímé, tam patří především agrotechnická opatření, vhodná volba odrůdy s vyšším stupněm resistance nebo metody nepřímé, kam patří především fungicidní ochrana, kterou se integrovaná ochrana snaží omezit.

Chrprová a kol. (2007) zmiňuje, že snižování rizikových faktorů je možné již před výsevem. Především výběrem vhodné lokality, předplodiny a správně zpracovanou půdou. Rizikové lokality lze zjistit z informací získaných na stránkách ÚKZÚZ nebo z vlastních zkušeností z přehledů minulých let. Nevhodnými pozemky jsou vlhké, uzavřené lokality s malým prouděním vzduchu. Nejhorší předplodinou je uváděna kukuřice na zrno, z hlediska velkého množství posklizňových zbytků. Škodlivý organismus produkující askospóry a makrokonidie může na těchto zbytcích přežívat i tři roky a tím se zvyšuje zdroj infekce v prostředí. Naopak zlepšujícími plodinami jsou okopaniny. S posklizňovými zbytky úzce souvisí zpracování půdy. Při minimalizačním zpracování půdy se zvyšuje riziko infekce fuzariózami.

Zachariášová a Hajšlová (2009) hovoří o tom, že aplikace některých dusíkatých hnojiv může podpořit výskyt choroby. Ve většině případů dusík v rostlině aktivuje enzym nitrát-reduktázu, který katalyzuje akumulaci aminokyselin. Následně dochází k syntéze vysokomolekulárních organických látek, které dávají vzniknout tzv. přepážkám mezi rostlinou a fuzariovým patogenem. Výzkum však potvrdil, že v některých případech může dusík podporovat výskyt fuzarióz a to u pšenice, ječmenu a tritikale. Konkrétní druhy fuzarií, které byly zaznamenány na zmíněných plodinách se zvýšeným obsahem dusíku, byly *Fusarium avenaceum*, *Fusarium culmorum* a *Microdochium nivale*.

Mezi další preventivní opatření lze zařadit volbu odrůdy. Měli bychom vybrat takové odrůdy, které nejsou náchylné k onemocnění a především v lokalitách, kde je výskyt fuzarióz méně častý. Velký důraz je kladen především na zdravé, certifikované osivo jako jedno ze základních preventivních opatření (Chrprová a kol., 2007).

Mezi přímé metody ochrany rostlin jsou řazeny metody mechanické, fyzikální a biologické a chemické.

V dnešní době se stále častěji setkáváme s metodami biologickými a to nejenom v ekologickém, ale již i v konvenčním zemědělství. Důvodem je snaha společnosti zabránit dalšího znečišťování životního prostředí a chránit tak zdraví lidí.

Hýsek a kol. (2008) tvrdí, že již existují výzkumy, kde biologické přípravky mají srovnatelnou účinnost s chemickými přípravky. Avšak při použití biologických přípravků nezůstávají v půdě ani v rostlině nežádoucí rezidua.

Johansson et al. (2003) uvádí, že část zemědělství, která pro ochranu proti chorobám rostlin nepoužívá pesticidy, se neustále zvyšuje. Především v ekologickém zemědělství je naléhavá potřeba alternativních metod ochrany. Nezbytné je hlubší pochopení půdy a kořenové mikroflóry v pěstebním systému se současným získáváním nových informací o škodlivých mikroorganismech. Nově získané poznatky jsou základem pro vznik nových biologických metod v ochraně rostlin. Jednou z těchto oblastí je používání přípravků na bázi mikroorganismů.

Tato metoda je založena na antagonistických vlastnostech mikroorganismů a to tak, že mikroorganismus obsažený v přípravku je schopen potlačit patogenní organismy v prostředí. Nejznámější biologický přípravek v ČR je Polyversum, kde biologickou složkou tvoří *Pythium oligandrum*. Tato houba kolonizuje rhizosféru ošetřených rostlin. Potlačuje převážně houby napadající kořeny a paty stébel, tedy i *Fusarium*. Tento přípravek je v ČR registrován od 18.5.2012 do pšenice a ječmene jarního. Dalším přípravkem je Supresivit, jehož aktivní složkou jsou vzdušné konidie houby *Trichoderma harzianum*. Dalšími přípravky jsou Ibefungin a Trianum P. Tyto přípravky lze aplikovat společně s minerálními hnojivy nebo aplikovat biopreparát jako mořidlo a nakonec je možné ho aplikovat jako postřik na houby parazitující na povrchu rostliny. Mezi ně lze zařadit padlí travní a rzi (Hýsek a kol., 2008).

Další biologický přípravek, který stejně jako přípravek Polyversum je možno použít pro biologické moření osiva, je Gliorex. Je to přípravek na bázi *Trichoderma asperellum* a *Clonostachys rosea* (Samsonová, 2012).

Hýsek a kol. (2008) uvádí polní pokusy zaměřené na ochranu rostlin prováděné na stanovišti VÚRV v.v.i v Praze – Ruzyni proti houbovým patogenům u pšenice ozimé a jarního ječmene. Pokusy byly prováděny opakovaně po dobu osmi let. V první variantě byl biopreparát aplikován společně s minerálními hnojivy (0,1 g na 1 kg hnojiva), v druhé variantě bylo biopřípravkem na sucho mořené osivo (0,1 g na 1



kg osiva) a v poslední variantě byl biopřípravek na rostliny aplikován postřikem (rozmícháním biopřípravku s destilovanou vodou v poměru 1: 400-1000). V pokusu byly použity všechny již zmíněné přípravky a opakování bylo prováděno na půdách klasicky zpracovaných, na půdách nezpracovaných s posklizňovými zbytky a na půdách s minimálním zpracováním půdy. Výsledkem bylo, že oproti kontrole došlo k potlačení půdních patogenů a přírůstky výnosů se průměrně zvýšily o 6 – 7 %. Snížení mikromycet v půdě oproti neošetřeným variantám bylo o 10 – 15 %. Největší účinek byl po aplikaci biopreparátu Trianum P a Supresivitu ve formě mořidla. Nevýhodou je, ale vyšší cena oproti klasickým chemickým přípravkům z důvodu malé výroby.

Podle seznamu povolených přípravků ÚKZUZ nejsou v současné době přípravky Supresivit, Trianum P a Ibefungin dostupné na trhu v České republice.

Další nechemickou metodou je metoda fyzikální. Pracuje na principu termického ošetření. Tímto způsobem může být ošetřeno osivo pro ekologické zemědělství. Tato metoda se jinak moc nepoužívá, z důvodu nižší účinnosti a vysokých nákladů (Samsonová, 2012).

Ošetření fungicidy se provádí v době, kdy byly splněny podmínky pro vznik infekce. Klasy jsou ovhčeny z důvodu dešťových srážek a teplota vystoupá nad 18 °C. Ackerman a kol. (2013) doporučují ochranu v období kvetení, nejčastěji v BBCH 61-65. Při aplikaci musí dojít k dostatečnému a rovnoměrnému rozptýlení kapaliny na povrchu klasů. Vhodné je použít dvou-šroubovité trysky.

Nejčastějšími povolenými přípravky jsou Abilis ultra (tebukonazol) – 1l/ha, Horizon 250 EW (tebukonazol) – 1l/ha, Magnello (difenokonazol, tebukonazol) – 1l/ha, Proline 250 EC (prothiokonazol) 0,8l/ha, Tebucur 250 EW (tebukonazol) – 1l/ha (Ackerman a kol., 2013).

Chemická ochrana není stoprocentní, proto je důležité jí kombinovat s dalšími metodami a kombinovat fungicidy s různou účinnou látkou a mechanismem účinku, abychom zabránili vzniku rezistence.

Mesterházy (1995) zmiňuje, že stejně jako ostatní plodiny i pšenice je schopna vyvolat přirozené obranné mechanismy proti škodlivým organismům, konkrétně proti *Fusarium*. Tyto mechanismy pracují na principech morfoloogických, fyziologických a biochemických. Současně, ale uvádí, že tento přirozený způsob ochrany není dostačující proti fuzariózám klasu.

### 3.3 Ekologické zemědělství

Dvorský a kol. (2011) definuje ekologické zemědělství jako druh zemědělství, které neznečišťuje životní prostředí. Omezuje nebo úplně zakazuje některé látky a postupy, které mohou negativně ovlivňovat životní prostředí nebo zvýšit kontaminaci krmiv pro hospodářská zvířata. Především je vyloučeno používat chemicko-syntetické látky.

To ve své publikaci potvrzuje i Šarapatka a kol. (2006) a současně zmiňuje, že ekologické zemědělství je i u nás uznávanou metodou, která je přesně definovaná zákonem.

Vzestup ekologického zemědělství, které se před rokem 1990 nazývalo alternativní neboli organické zemědělství nastalo v minulém století. Vzestup tohoto způsobu hospodaření nastal v době, kdy průmyslově zemědělství mělo negativní dopady na okolní prostředí. Mezi negativní dopady životního prostředí lze zařadit poškozování přírody, nevhodnou péči věnovanou hospodářským zvířatům, což se odrazilo ve snižování kvality potravin se současným vlivem na zdraví lidí (Šarapatka a kol., 2006).

Ekologické zemědělství se snaží udržovat a zlepšovat půdní úrodnost a omezovat znečišťování životního prostředí zemědělskou činností. Dalším krokem tohoto hospodaření je nepoužívat neobnovitelných surovin, fosilní energie, průmyslových hnojiv a syntetických pesticidů. Těmito opatřeními by se měly zlepšit podmínky hospodářským zvířatům, aby odpovídaly jejich fyziologickým, etologickým a humanitním potřebám. Cílem této metody zemědělství je produkovat jen potraviny a krmiva s vysokou nutriční hodnotou a současně udržovat přírodní ekosystémy v krajině a její diverzitu (Dvorský a kol., 2011).

Šarapatka a kol. (2006) potvrzuje zmíněné cíle ekologického zemědělství a současně upozorňuje, že ekologické zemědělství v dnešní době reaguje na problémy klasického zemědělství.

V České republice stále roste počet ekologických farem. Jejich počet dosahuje 3920 o rozloze 482,927 ha, což představuje 11,4 % z celkových zemědělsky využívaných ploch (Capouchová, 2012).

### 3.3.1 Zásady pěstování rostlin v ekologickém zemědělství

Základem pěstování rostlin v ekologickém zemědělství je pestrý osevní postup. Měly by zde být zastoupeny rostliny s různou strukturou kořenového systému, rostliny s vysokou i nízkou konkurenční schopností vůči plevelům s vegetačním pokryvem půdy co nejdéle. Pokryv půdy je vhodný i během zimního období i z hlediska eroze půdy. Účelné je zařazovat do osevního postupu jeteloviny a luskoviny (Šarapatka, 2006).

Z hlediska odrůdy je nezbytné vybrat odrůdy rezistentní vůči škodlivým činitelům a využívat odrůdové směsi a smíšené kultury (Šarapatka a kol., 2006).

Moudrý a Konvalina (2008) konstatují, že volba odrůdy a osiva je základem pěstování plodin v ekologickém zemědělství. Volba odrůdy je založena na několika kritériích. Vybraná odrůda by měla být odzkoušena v systému ekologického zemědělství a stanoviště by mělo odpovídat ideálním podmínkám odrůdy. Dalšími požadovanými vlastnostmi odrůdy jsou odolnost vůči konkurenčním plevelům, rezistence vůči převažujícím chorobám a škůdcům a vyvinutý kořenový systém pro dostatečný příjem živin. Při splnění zmíněných podmínek může pěstitel dosáhnout uspokojivého výnosu.

Ekologičtí farmáři doporučují pěstovat staré a krajové odrůdy. Jsou to odrůdy s vyšším obsahem bílkovin, aminokyselin s vysokou nutriční hodnotou. S lepším příjmem živin a konkurenční schopností vůči plevelům než odrůdy moderní. Naopak výnos těchto odrůd je o dost nižší než u moderních odrůd (Moudrý a Konvalina, 2008).

Výskyt plevelů v ekologickém zemědělství není regulován herbicidy. Zde se využívá preventivních metod a agrotechnických opatření (Šarapatka a kol., 2006).

Ochrana rostlin proti chorobám a škůdcům je v této metodě zemědělství založena především na preventivních opatřeních. Zejména osevním postupem, výběrem stanoviště, odrůdy atd. Další možností je dnes častěji používaná biologická metoda, například přípravky rostlinného původu a přirození nepřátelé. Používání synteticky vyrobených pesticidů je zakázáno (Šarapatka a kol., 2006).

To potvrzuje i Velema et al. (2004) a současně se zmiňuje o dalších možnostech ochrany rostlin proti škodlivým činitelům. Profesionální ekologičtí pěstitelé mají stejně vysoké nároky na prostředí pro příznivý vývoj plodiny jako konvenční zemědělci. Jednou z dalších možností ochrany je začít pěstovat plodinu v oblasti, kde není tak rozšířená a tím je i zajištěné snížené napadení chorobami a škůdci vyskytujícími se v původních oblastech.

Výživa rostlin je postavena na preventivních metodách, konkrétně na správném osevním postupu. Nejčastěji je možné využít organických hnojiv. Minerální hnojiva i v malém množství jsou zakázána (Šarapatka a kol., 2006).

### **3.3.2 Pšenice jarní pěstovaná v podmínkách ekologického zemědělství**

Moudrý a Konvalina (2008) uvádí, že v ekologickém zemědělství je využíváno více jarních forem jarní pšenice než-li je tomu v konvenčním zemědělství, kde je přednější pěstování ozimých forem pšenice. Důvodem vyššího zastoupení jarních forem v ekologickém zemědělství je vymrzání, poškození zvěří a deficit dusíku u ozimých forem. Je to zřejmé i v nabídce certifikovaných osiv pro ekologické zemědělství, kde je zastoupeno více jarních forem.

Základem pěstování pšenice v ekologickém zemědělství je vybrání vhodného stanoviště s požadovanými podmínkami. Nejvhodnější jsou teplejší, sušší oblasti s úrodnými půdami, které jsou vododržné, strukturní, s neutrální reakcí (Šarapatka a kol., 2006). To potvrzuje Moudrý a Konvalina (2008) a současně řadí pšenici mezi rostliny se slabě rozvětveným kořenovým systémem, který je charakterizován pomalým vývojem. S tím souvisí i špatná odolnost vůči plevelným společenstvům, proto je náročná na agrotechnická opatření a vyváženou výživu.

Z toho vyplývá, že pro zajištění kvalitních a stabilních výnosů je důležité věnovat velkou pozornost především preventivním opatřením jako je správná agrotechnika.

Z hlediska osevního postupu je pšenice náročná na předplodinu. Vhodnou předplodinou jsou plodiny, které potlačují plevelná společenstva a zanechávají v půdě dostatek živin pro následnou plodinu. Těmito plodinami jsou jeteloviny a luskoviny, které lze nahradit plodinami hnojenými organickými hnojivy upravujícími strukturu půdy. Jedná se o brambory, řepu a olejninu (Moudrý a kol., 2007).

Příprava půdy je dána podzimní hlubokou orbou, při které nejčastěji dochází k zaorání zeleného hnojení. Podmítka je využívána hlavně po časně sklizených předplodinách. Nezbytné je zamezit zhutnění půdy při zakládání porostu a rozmazání půdy, způsobené nevhodnými smykami. Výsev je nutné provést včas s optimální vlhkostí do hloubky 3 – 4 cm. Na úrodných plochách se výsevek pohybuje v rozmezí 180 – 220 kg/ha. Naopak v oblastech s méně příznivými podmínkami je nezbytné výsevek zvýšit na 220 – 250 kg/ha (Moudrý a Konvalina, 2008).

Dvorský a kol. (2011) upřednostňují vyváženou výživu rostlin, která zvyšuje kompaktnost a odolnost pletiv i celé rostliny vůči škodlivým organismům.

Výživa pšenice jarní je založena na živinách získaných z předplodiny, zejména zaoraným zeleným hnojením. Případně lze živiny do půdy doplnit hnojením chlévským hnojem při zpracování půdy. Během vegetace je možnost přihnojit jarní pšenici močovinou, kejdou nebo i dobře rozptýleným kompostovaným chlévským hnojem nejčastěji v dávce 10 - 15 t.ha<sup>-1</sup> (Moudrý a Konvalina, 2008). Naopak Dvorský a kol. (2011) uvádí, že aplikace organických hnojiv by měla být pouze do půdy a nikoliv na rostlinu a tím plodinu udržujeme v dobrém zdravotním stavu. Současně dochází ke zvyšování biologické aktivity půdy, udržení stabilnější struktury půdy a dodávání vyvážené výživy a tím zvyšování odolnosti rostlin. Nezastupitelným prvkem ve výživě rostlin je draslík. V dostatečném množství v rostlině pozitivně působí proti houbovým a bakteriálním chorobám.

Regulace plevelů je zajištěna mechanickými opatřeními. Využívá se především prutových bran již od zasetí do fáze třetího listu. V období od první do třetí fáze vývinu listů jsou plodiny velmi náchylné na mechanické poškození branami. Oproti ozimům je u jarní pšenice vhodné regulovat plevelné rostliny ještě v období před vzcházením rostlin. Na půdách těžkých se silným výskytem chundelky metlice se mimo vláčení využívají také plečky. Současně s regulací plevelů dochází i k provzdušnění půd a tím zlepšení podmínek pro růst a vývin rostlin (Šarapatka a kol., 2006).

Ochrana proti škodlivým organismům je založena na základních preventivních opatřeních. Můžeme sem zařadit osevnický postup, zpracování půdy, výběr odrůd, registrované certifikované osivo, dobu setí, vyváženou výživu apod. Další možností je využívání povolených biologických přípravků.

Z pohledu produkce ekologičtí pěstitelé stále dosahují nižší výnosů než konvenční zemědělci. Jak uvádí Halberg (2012) z hlediska výnosu na kg produkce je u ekologického zemědělství výnos stále relativně malý oproti klasickému způsobu zemědělství. Důvodem jsou problémy způsobené omezenými znalostmi a chápáním biologických mechanismů ekologických metod.

### **3.4 Osivo v podmínkách ekologického zemědělství**

Nejen v konvenčním zemědělství, ale i v ekologickém zemědělství má výběr osiva velký význam z hlediska dalšího pěstování. Kvalitní osivo rozhoduje o

rovnoměrnosti a kvalitě vzcházejícího porostu a počtu jedinců na hektar (Šarapatka a kol., 2006).

Pro zabránění snižování kvality semen je nejlepší způsob prevence. V případě výskytu choroby či škůdce je žádoucí léčbu řešit biologickými pesticidy nebo přirozenými predátory (Velema et al., 2004).

S výběrem osiva úzce souvisí i výběr odrůdy. V případě použití nevhodné odrůdy a certifikovaného osiva výsledek nedosáhne požadovaných výnosů jako by tak bylo při použití vhodné odrůdy a certifikovaného osiva. To platí i v opačném případě (Šarapatka a kol., 2006). Z registrovaných odrůd pšenice jarní pro ekologické zemědělství se doporučují odrůdy Granny, Septima a Tercie (Samsonová, 2012). Je důležité v ekologickém zemědělství věnovat výběru odrůdy a osiva zvláštní pozornost. Už jenom proto, že ekologický pěstitel má velmi omezené možnosti k odstranění nedostatků, které mohou nastat v průběhu vegetace. Jedná se především o chemickou ochranu, jak proti chorobám a škůdcům, tak proti plevelným rostlinám, kterou je možno využít v konvenčním způsobu zemědělství. Z toho vyplývá, že využívání uznaného osiva z registrovaných semenářských firem je v tomto případě nezbytné. Legislativa ekologického zemědělství nařizuje používání osiva v ekologické produkci jen z rostlin, které byly pěstovány v podmínkách ekologického zemědělství (Šarapatka a kol., 2006).

Osivo pro ekologické zemědělství je základem dalšího pěstování a i zde platí řada legislativních opatření. Jedním z nich je zákon č. 219/2003 Sb., o oběhu osiva a sadby a na něj navazující vyhláška s přílohami a současně i zákon č. 242/2000 Sb., o ekologickém zemědělství. Legislativa platící pro všechny členské státy EU je Nařízení Komise (ES) č. 889/2008 ze dne 5. září 2008, kterým se stanoví prováděcí pravidla k nařízení Rady (ES) č. 834/2007 o ekologické produkci a označování ekologických produktů, pokud jde o ekologickou produkci, označení a kontrolu. Ta nařizuje všem státům EU vést aktuální databázi dostupných ekologických osiv a sadby (Šarapatka, 2006). Dvorský a kol. (2011) uvádí, že v České republice tyto databáze spravuje Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Současně tento úřad uděluje výjimky v používání konvenčního osiva v ekologickém zemědělství nebo používání vegetativního rozmnožovacího materiálu nepěstovaného v ekologických podmínkách. Používání konvenčního osiva v ekologickém zemědělství lze využít pouze v případě, že v databázi nebyly žádné dostupné odrůdy požadované plodiny, v požadavcích na konkrétní odrůdu nebyly v databázi žádné odrůdy se stejnými nebo podobnými vlastnostmi, vybraná odrůda nemůže být dodána nebo se jedná o rostliny pěstované pro

udržení odrůdy či rostliny pěstované za účelem výzkumu. V České republice je stále nedostatek ekologického osiva a sadby.

Diskutovaným problémem je používání farmářských neboli vlastních osiv při udělování výjimek. Ze zákona je zakázáno obchodovat s tímto osivem nebo předávat ho další osobě (Dvorský a kol., 2011).

Největší problém farmářských osiv jsou patogeny přenosné osivem. Tento typ osiva nepodléhá kontrolám zdravotního stavu a právě patogeny přenosné osivem nemusí být viditelné pouhým okem. Těmito patogeny jsou i houby rodu *Fusarium* (Prokinová, 2013b).

Urban (2011) uvádí, že při používání farmářského osiva po více let, může docházet ke snižování zdravotní nezávadnosti osiva, čistoty osiva, což se odrazí ve výnosech.

Honsová a kol. (2013c) uvádí, že byla prokázána vyrovnanost kvality certifikovaných osiv a osiv farmářských získaných z dobrých pěstitelských podmínek. Při porovnání farmářských osiv z horších podmínek s certifikovaným osivem byla kvalita osiva v některých případech téměř srovnatelná.

Před samotným výsevem je zákonem zakázáno bioosivo mořit syntetickými mořidly. Zvýšit tak ochranná opatření lze preventivními metodami. Mezi ně patří používání certifikovaných osiv, omezit používání farmářských osiv, nepoužívat osiva neznámého původu, výsev do dobře připravené půdy a ve správném termínu a zvolit optimální výsek na dané stanoviště. Alternativními metodami, kterými je možné částečně nahradit chemickou úpravu osiva, je ošetření osiv teplou vodou nebo použití registrované biologické přípravky (Šarapatka a kol., 2006).

V současné době je řada přípravků pro ekologické zemědělství ve stavu pokusů. V jednom z těchto pokusů bylo testování přípravků pro moření ekologického osiva na bázi nejrůznějších mikroorganismů. Sledována byla vzcházivost a výnos pěstovaných plodin. Využity byly přípravky Polyversum, Gliorex, Cerall, Cedomon, Ferbiflor a Azoter. Například Polyversum je mikrobiologickým fungicidem obsahujícím *Pythium oligrandum*, účinkující proti houbám napadajícím kořeny, kořenové krčky či paty stébel. U pšenice jarní v tomto dvouletém pokusu nedošlo po aplikaci těchto přípravků na osivo ke zlepšení vzcházivosti rostlin a zvýšení výnosů, oproti nenamořené kontrole (Honsová a kol., 2013a).

Velema et al. (2004) uvádí, že nemoci přenosné osivem jsou závažným problémem, neboť pozdější dezinfekce osiva je často nemožná. Základem je vyhnout se

těmto původcům onemocnění. Baker (1972) charakterizuje patogeny přenosné osivem jako organismy, které mohou a nemusí vyvolávat viditelné příznaky. Ty se mohou vyskytovat na nebo v osivu. Velema et al. (2004) uvádí, že mimo biologických přípravků je doporučována dezinfekce teplou vodou.

Majumder et al. (2013) dodává, že infikovaná osiva mohou být roznášena na delší vzdálenosti společně s patogenem.

Ekologické osivo je při produkci omezováno v některých metodách, které lze použít k léčbě osiva. Pravidla pro produkci ekologických plodin a osiva stanovují mezinárodní orgány jako Mezinárodní federace hnutí ekologických zemědělců (IFOAM) a Evropská unie. Tyto organizace stanovují normy týkající se certifikace ekologické produkce (Groot et al., 2004).

Grirsén and Weinhappel (2004) uvádí, že zdravotní stav osiv podle norem v Rakousku má velmi vysoké hodnocení. Chemické ošetření certifikovaných osiv se zde provádí v případě nezbytnosti, nikoliv preventivně. Pokud se pěstuje v souladu se zemědělskou praxí, neošetřené ekologické nebo konvenční osivo obilnin dosahuje srovnatelných výsledků jako osivo chemicky ošetřené.

Timmermans et al. (2009) uvádí, že snižování hustoty rostlin na jednotce plochy nastává v případě použití infikovaného osiva při pěstování obilnin. Dále se zmiňuje, že v příznivých klimatických podmínkách produkce pšenice snižená hustotou rostlin nemusí mít vliv na výnos, neboť ztráty jsou kompenzovány vyšším odnožováním rostlin.

Pro testování zdravotního stavu osiva lze využít metodu vlhké komůrky. Je to jedna z nejlepších metod pro ověření zdravotního stavu proti houbovým patogenům přenosným osivem (Limonard, 1966).

Majumder et al. (2013) uvádí další metody, kterými lze vyhodnotit zdravotní stav osiv. Nejzákladnější metodou je vizuální kontrola osiva, kde se hodnotí změna barvy, pigmentace nebo houbové struktury na povrchu osiva, jako přítomnost mycelia. Další metoda je založena na namáčení osiva do 2 % roztoku hydroxidu sodného po dobu 20 hodin, při 20 °C. Infikovaná osiva se vyznačují lesklými sazemi na povrchu osiva, na rozdíl od osiva zdravého, které má světle žlutou barvu. Známou metodou je také inkubace osiva na živném médiu. Dále je možné využít metody mikroskopické, imunochemické (Elisa) nebo molekulárně-biologické (PCR).



# 4 Materiál a metody

## 4.1 Materiál

### 4.1.1 Odrůdy jarní pšenice použité v této práci

**Seance** je poloraná odrůda středně vysoké až nízké vzrůstnosti, středně odnožující a se středně velkým zrnem. Jedná se o odrůdu chlebové (B) jakosti s vysokým výnosem zrna ve variantě ošetřené i neošetřené, kde ztráty u neošetřené se pohybují do 10 % (dle pokusu ÚKZÚZ, 2008 – 2011).

Výhodou odrůdy Seance je vysoký výnos a odolnost k padlí travnímu jak na listu tak v klasu. Nevýhodou je nižší odolnost k poléhání a obsahuje menší množství dusíkatých látek.

**Septima** je odrůda středně raná, nízkého vzrůstu, méně odnožující s malým zrnem. Je řazena do jakosti kvalitní (A) s vysokým výnosem zrna.

**SW Kadrilj** je stejně jako Seance poloranou odrůdou, ale naopak elitní (E) jakosti. Je středně vysoké až vysoké vzrůstnosti a dobře odnožující. Zrno je velké a výnos je vysoký v ošetřené i neošetřené variantě.

**Trappe** je pozdní odrůdou chlebové (B) jakost se středně velkým zrnem. Rostliny jsou středně vysoké a dobře odnožující. Výnos je opět vysoký jak v ošetřené tak neošetřené variantě. Předností této odrůdy je velmi vysoký výnos zrna. Nevýhodou je nižší odolnost ke rzi plevové.

### 4.1.2 Izolát *Fusarium culmorum*

Zmíněné odrůdy pšenice jarní jsou v práci dále využity ve všech pokusech zjišťujících napadení *Fusarium culmorum* a jeho vliv na osivo.

K inokulaci osiva byl použit druh *Fusarium culmorum*, izolát ze sbírky VÚRV v Praze – Ruzyni. Pro vlastní inokulaci osiva byla použita suspenze získaná z kultury staré 10 dní, vypěstované na Czapek-Doxživném médiu. Kultura byla převedena do sterilní vody, na osivo byla postříkem aplikovaná suspenze o hustotě  $10^7$  CFU (colonyformingunits).

Ve skleníkovém pokusu byl použit zahradnický substrát (AGRO) a zemina z provozního pozemku (hlinitojílovitá půda), ve kterém se opakovaně vyskytují ve zvýšené míře choroby pat stébel.

### 4.1.3 Charakteristika stanoviště polního pokusu

Polní pokus probíhal ve výzkumné stanici katedry rostlinné výroby ČZU v Praze – Uhřetěvesi. Pozemky v okolí stanice jsou řazeny do řepařského výrobního typu, řepařsko – pšeničného subtypu. Průměrná nadmořská výška je 295 metrů. Půdní typ hnědozem. Ornice je mírně až středně humózní (1,74 – 2,12 %), s neutrální reakcí v celém svém profilu. Sorpční komplex je nasycený. Podle klasifikační stupnice Kopeckého patří tyto půdy do skupiny jílovitých hlín. Dlouhodobý teplotní normál vzduchu je 8,3 °C, průměrná teplota ve vegetačním období je 14,6 °C. Dlouhodobý úhrn ročních srážek dosahuje 575 mm, z toho v období duben až září 380 mm. Nejbohatší srážky jsou v měsíci červnu a červenci, nejchudší v únoru.

### 4.1.4 Cíle pokusů této diplomové práce

Pokusy byly prováděny v různém prostředí na čtyřech odrůdách pšenice jarní. S tím, že ve všech pokusech bylo použito osivo původní - bez inokulace a osivo inokulované *Fusarium culmorum*.

Cílem laboratorního pokusu bylo zjistit klíčivost a napadení obilek u různých typů osiva.

Nádobový pokus byl založen pro sledování klíčení, vzcházivosti a zdravotního stavu osiva v jednotlivých variantách ve dvou různých typech půdy s různým typem osiva. Sledování zdravotního stavu bylo zaměřeno na již zmíněnou houbu *Fusarium culmorum*.

Polní pokus byl založen v roce 2013 z důvodu sledování klíčivosti, vzcházivosti a zdravotního stavu pšenice jarní na dvou různých plochách. Zmíněné vlastnosti byly sledovány opět na čtyřech odrůdách pšenice jarní (SW Kadrijl, Trappe, Seance a Septima), pěstované z původního osiva - bez inokulace a osiva inokulovaného *Fusarium culmorum*.

Při vyhodnocování pokusů byla hodnocena vzcházivost a zdravotní stav rostlin. Porovnávány byly rostliny pěstované z inokulovaného osiva *Fusarium culmorum* a z osiva původního – bez inokulace. Rozdílnost byla sledovaná také z pohledu odrůd a typu půd ve kterém byly plodiny pěstovány.

## 4.2 Metodika

### 4.2.1 Metoda hodnocení vitality osiva v laboratorních podmínkách

#### 4.2.1.1 Stanovení klíčivosti osiva pšenice jarní

Klíčivost osiva je důležitou vlastností všech osiv, která určuje vzházivost a vitalitu porostu, což má vliv na pěstitelské výsledky. Klíčivost byla stanovena standartní metodou vlhké komůrky.

Klíčivost byla provedena v laboratorních podmínkách. V pokusu byla stanovena energie klíčivosti a klíčivost u několika variant (Tab č. 1). Každá varianta měla celkem 4 opakování. V jednom opakování bylo na vlhký filtrační papír vykládáno 50 zrn.

Varianty laboratorního pokusu	
Odrůda	Typ osiva
1 SW Kadrijl	Inokulované osivo
2 Trappe	
3 Seance	
4 Septima	
Odrůda	Typ osiva
5 SW Kadrijl	Kontrola
6 Trappe	
7 Seance	
8 Septima	

Tab č. 1 Varianty použité při stanovení klíčivosti

Princip metody vlhké komůrky spočívá v inkubaci osiva na vlhkém filtračním papíře, v temnu při teplotě okolo 20 °C. V těchto podmínkách mají semena možnost klíčit. Současně se mohou projevit viditelné symptomy napadení houbovými patogeny přenosnými osivem.

Po uplynutí 3 dnů byla stanovena energie klíčivosti, po 7 dnech pak samotná klíčivost semen. Získané hodnoty jednotlivých variant byly zprůměrovány a převedené na procenta. Tyto hodnoty byly dále využívány při hodnocení pokusu.

#### **4.2.1.2 Izolace mikroskopických hub z obilek pšenice jarní na živném médiu**

Pro další manipulaci s osivem bylo nezbytné provést izolaci hub z obilek na živné médium, konkrétně tedy na Rose Bengal Agar Base (HIMEDIA M842), abychom zjistili případnou přítomnost patogenů přenosných osivem. Jedná se o další metodu hodnotící zdravotní stav osiva.

Pro izolaci bylo nezbytné vytvořit striktně sterilní prostředí. Pracovní plocha byla dezinfikovaná 70% etanolem a ošetřena desinfekčním přípravkem Desidentspray. Manipulace s miskami a obilkami probíhala v dosahu plamene lihového kahanu. Do Petriho misky o průměru 90 mm s již připravenou živnou půdou byly vyskládány obilky, bez povrchové dezinfekce. Každá varianta měla tři opakování, v jednom opakování bylo 10 zrn. Inkubace probíhala ve tmě, při teplotě 20 °C. Po šesti dnech byly zaznamenány počty kolonií hub v jednotlivých miskách – opakováních. Determinace mikromycetů byla provedena do úrovně rodu podle mikroskopických morfologických znaků.

#### **4.2.2 Metodika skleníkového (nádobový) pokusu**

##### **4.2.2.1 Založení skleníkového pokusu**

Sledovanými vlastnostmi tohoto pokusu byl vliv inokulace osiva *Fusarium culmorum* na vzcházivost a růst u různých odrůd pšenice jarní a v různých pěstebních substrátech.

Nádobový pokus byl založen ve dvou různých zeminách. V zemině získané z provozního pozemku (hlinitojílovitá půda), ve kterém se opakovaně vyskytují ve zvýšené míře choroby pat stébel a v klasickém zahradnickém substrátu.

Nádobový pokus zahrnoval 16 variant, které jsou znázorněné v tabulce č. 2. Před založením pokusu bylo nezbytné kontaminovanou zeminu rozmělnit, z důvodů výskytu velkých hrud. Jednotlivé truhlíky byly naplněny požadovanou zeminou asi do  $\frac{3}{4}$  celkového objemu a obilky byly vysety do hloubky cca 1 cm do tzv. trojsponu, aby zrna měla dostatek prostoru. Do jednoho truhlíku bylo vyseto přesně 30 obilek do 3 řad po 10 obilkách.

Varianty nádobového pokusu			
Varianty	Odrůdy	Typ osiva	Typ půdy
1	SW Kadrijl	Inokulované osivo	Zemina
2	Trappe		
3	Seance		
4	Septima		
5	SW Kadrijl	Kontrola	Zemina
6	Trappe		
7	Seance		
8	Septima		
9	SW Kadrijl	Inokulované osivo	Substrát
10	Trappe		
11	Seance		
12	Septima		
13	SW Kadrijl	Kontrola	Substrát
14	Trappe		
15	Seance		
16	Septima		

Tab. č. 2 Varianty nádobového pokusu

#### 4.2.2.2 Izolace mikroskopických hub ze zemin na živné medium

U zemin použitých v nádobovém pokusu byl proveden mikrobiologický rozbor a cílem bylo ověřit přítomnost půdních fytopatogenních hub.

V zahradnickém substrátu by neměly být detekovány škodlivé organismy. Naopak u zeminy z provozního pozemku přítomnost nežádoucích patogenů může být vysoká. Ty mohou následně ovlivnit klíčivost a vzcházivost rostlin.

Nejprve bylo odváženo 10 g zeminy a stejně tak 10 g substrátu vpraveno do baněk se sterilní vodou. Byla připravena ředící řada. Pro vlastní izolaci bylo použito ředění  $10^{-4}$ .

Ve sterilním boxu byl 1 ml suspenze napipetován do Petriho misek a následně zalit Cz – D agarem. Každá varianta měla pět opakování. Inkubace probíhala ve tmě, v teplotě 21 °C. Po třech a šesti dnech byly spočítány kolonie hub, které na Petriho miskách vyrostly. Následně byla provedena mikroskopická determinace získaných izolátů do úrovně rodu.

#### 4.2.2.3 Průběh a ukončení pokusu

Pokus byl založen 12.4.2013 a první vzcházivost byla zaznamenána po 7 dnech. Další hodnocení vzešlých rostlin proběhlo 17 den od založení pokusu. Konečné

hodnocení vzešlých rostlin bylo stanoveno dne 29.5.2013 a současně byl pokus ukončen. To znamená, že pokus trval necelé dva měsíce. Udržení pokusu po delší dobu nebylo možné, z důvodu nedostatečného prostoru pro rostliny. Během pokusu byl sledován vývoj rostlin, zdravotní stav a současně byla pořizována fotodokumentace.

Po ukončení pokusu bylo náhodně vybráno z každé varianty 10 rostlin. U každé rostliny byla změřena délka kořenového systému, délka listové plochy a zhodnocen zdravotní stav. Současně byly odebrány rostliny pro detekci *Fusarium culmorum* pomocí molekulárně-biologické metody.

## 4.2.3 Metodika polního pokusu

### 4.2.3.1 Založení a průběh pokusu

U polního pokusu bylo založeno 16 variant (tab. č. 3) a každá varianta měla dvě opakování. Rozloha jedné parcelky respektive jednoho opakování dosahovala 10 m<sup>2</sup>. Z toho polovina parcelek byla založena na půdě konvenční a druhá polovina na půdě ekologické.

Varianty polního pokusu			
Varianty	Odrůdy	Typ osiva	Typ půdy
1	SW Kadrijl	Inokulované osivo	Konvence
2	Trappe		
3	Seance		
4	Septima		
5	SW Kadrijl	Kontrola	Konvence
6	Trappe		
7	Seance		
8	Septima		
9	SW Kadrijl	Inokulované osivo	EKO půda
10	Trappe		
11	Seance		
12	Septima		
13	SW Kadrijl	Kontrola	EKO půda
14	Trappe		
15	Seance		
16	Septima		

Tab. č. 3 Varianty polního pokusu

Příprava půdy na ekologické ploše byla započata orbou 9.11.2012. Předplodinou na tomto stanovišti byla peluška jarní - *Pisum sativum*, která sloužila

jako zelené hnojení. Předseťová příprava půdy byla provedena v období 5.4 – 9.4.2013. Samotný výsev proběhl dne 10.4.2013 a následný den byl pozemek uvalen. Jediné ochranné opatření, které na tomto stanovišti bylo provedeno, bylo mechanické. Ve dvou termínech, konkrétně 15.5. a 16.6.2013 bylo provedeno vláčení k prokypření půdy a odstranění plevelných rostlin.

Na konvenčním pozemku byla provedena orba 19.11.2012. Použitou předplodinou na tomto stanovišti byla svazenka vratičolistá - *Phacelia tanacetifolia*. Příprava před setím a samotné setí proběhlo ve stejných termínech jako na pozemku ekologickém. Plodiny pěstované na konvenční ploše byly hnojeny 16.5.2013 60 kg N/ha (LAD 27). Ochrana byla provedena pouze proti plevelům a to dne 11.6.2013 přípravky – Agritox + Starane + Lontrel. Vegetační doba plodin na obou stanovištích trvala 134 dní.

V průběhu vzcházení a vývinu rostlin bylo provedeno hodnocení porostu, byl zaznamenán stav rostlin, případně poškození škodlivými organismy s hlavním zaměřením na rod *Fusarium*. Na konci června bylo z každé varianty odebráno 20 rostlin bez kořenového systému k diagnostice *Fusarium culmorum*. V sprnu byly odebrány vzorky klasů pro hodnocení zdravotního stavu zrn.

Sklizeň proběhla na obou stanovištích dne 22.8. 2013. Koncem září po sklizni bylo v prostorách pokusné stanice v Uhříněvsi provedeno čištění a zpracování osiva. Stanoven byl hrubý, čistý výnos, HTS, vlhkost a objemová hmotnost.

#### **4.2.4 Metoda detekce *Fusarium culmorum* v rostliném pletivu**

Rostliny odebrané z pokusů byly zamrazeny a následně byly použity pro diagnostiku *Fusarium culmorum* ve svých pletivech. Pro úspěšnou diagnostiku bylo využito metody PCR.

#### **Polymerázová řetězcová reakce**

Podstatou metody PCR je zmnožení (amplifikace) konkrétních fragmentů DNA. Při realizaci této metody je nutné připravit konkrétní směsi.

##### **Složení směsi:**

- 18,8 µl ddH<sub>2</sub>O
- 2,5 µl (1 x) PCR pufr pro *Taq polymerázu* s (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>
- 1,5 µl (1,5 mM) MgCl<sub>2</sub>
- 0,3 µl (0,3 mM) dNTP

- 0,4 µl (0,4 µM) směs obou primerů
- 0,5 µl (2,5 U) *Taq polymerázy*

**Použité primery:**

- OPT18F 5' - GATGCCAGACCAAGACGAAG - 3'
- OPT18R 5' - GATGCCAGACGCACTAAGAT - 3'

Primery byly vybrány z publikace Schiling a kol. (1996).

Všechny složky směsi pro PCR, mimo *Taq polymerázu* je nutné před použitím rozmrazit a promíchat. Směs je připravena pro všechny analyzované vzorky DNA a poté je rozdělena do jednotlivých mikrokumavek v objemu 24 µl. Nakonec je přidán 1 µl izolované DNA, tak aby celkový objem dosahoval 25 µl. V této práci proto byla použita jako pozitivní kontrola čistá DNA *Fusarium culmorum*. Jako negativní kontrola byla použita DNA ze zdravé rostliny a ddH<sub>2</sub>O. Připravené vzorky byly vloženy do termocyklieru MJ Research PTC 200 s požadovaným programem.

**Parametry PCR:**

- Počáteční denaturace: 95 °C, 5 min
  - Denaturace: 95 °C, 1 min
  - Anelace: 59 °C 0:45, min
  - Polymerace: 72 °C, 1 min
  - Konečná polymerace: 72 °C, 4 min
  - Chlazení: 12 °C
- } 34 cyklů

**4.2.4.1 Příprava homogenátu**

1. Nejprve bylo naváženo 20 g rostlinného materiálu. Tento biologický materiál byl tvořen směsí celých rostlin konkrétní varianty.
2. Navážený rostlinný materiál byl smíchán s 200 ml CTAB (50 mM Tris-HCl pH 8,0, 0,7 mM NaCl, 10 mM EDTA, 1 % CTAB) a nejprve rozmělněn kuchyňským mixerem.
3. K vzorku byly přidány 2 ml IAA, aby byla eliminována tvorba pěny.



4. Vzorek byl dále homogenizován pomocí homogenizátoru (DI 25 Basic, IKA) 13 500 otáčkách po dobu 20 s.
5. Z připraveného homogenátu byl pipetován objem 1 ml do připravených a popsaných mikrozkušavek (pro každou variantu byla provedena čtyři opakování).

#### 4.2.4.2 Izolace DNA

1. K vzorkům bylo přidáno 1,56  $\mu$ l ME a vzorky byly následně krátce promíchány pomocí vortexu.
2. Vzorky byly inkubovány při 65 °C po dobu 1 hodiny v termobloku.
3. Do vzorků bylo pipetováno 1000  $\mu$ l směsi fenol + CH:I (24:1) v poměru 1:1.
4. Pro promíchání vzorků byla použita horizontální třepačka po dobu 10 minut. Následně byly vzorky vloženy do centrifugy a odstředěny při 7500 x g po dobu 10 minut.
5. Ze vzorků byla pipetou odebrána horní část nad bílkovinným kroužkem do nové mikrozkušavky.
6. Do mikrozkušavky bylo přidáno 700  $\mu$ l směsi CH:I (24:1) a vzorky byly protřepány na horizontální třepačce po dobu 10 minut.
7. Následně byly vzorky opět centrifugovány po dobu 10 minut, při 7500 x g
8. Ze vzorků byla opět odebrána horní vodná část do nové mikrozkušavky.
9. Precipitace DNA byla provedena přidáním isopropanolu v ekvivalentním objemu jako byl odebraný vzorek.
10. Směs byla promíchána 5x otočením zkumavky v ruce.
11. Po nasazení zámečku na mikrozkušavku, byla precipitace DNA podpořena umístěním vzorků do tekutého dusíku po dobu 10 minut.
12. Po rozmrznutí byly vzorky centrifugovány při 9 000 x g po dobu 10 minut.

13. Obsah mikrozkuřavy byl vylit.
14. K sedimentu DNA bylo přidáno 200  $\mu$ l 70% ethanolu.
15. Vzorky byly centrifugovány opět při 9 000 x g po dobu 10 minut.
16. Ethanol byl opatrně vylit, tak aby nebyl vyplaven sediment DNA.
17. DNA byla sušena při laboratorní teplotě po dobu 15 – 20 minut.
18. Ke vzorkům bylo pipetováno 200 $\mu$ l TEpufru (pH 8) (10 mM Tris, 1 mM EDTA).
19. Vzorky byly protřepány na horizontální třepače po dobu 20 minut.

#### 4.2.4.3 Měření koncentrace DNA

Při velmi malé koncentraci nemusí při PCR dojít k detekci *Fusarium culmorum* ve vzorku. V případě vyšší koncentrace bylo potřeba vzorek naředit TE puřrem. V opačném případě bylo nutné provést izolaci DNA znovu.

Koncentrace byla měřena při vlnových délkách 260 nm a 280 nm na spektrofotometrickém přístroji NanoDrop ND2000. Výsledky byly vyhodnoceny pomocí počítačového programu toho přístroje. Na měřicí optiku přístroje bylo pipetováno 2  $\mu$ l vzorku a následně došlo k proměření izolované DNA. Jako negativní kontrola byl použit TE puřr bez DNA.

#### 4.2.4.5 Elektroforetická separace

Výsledky PCR byly stanoveny elektroforeticky na připraveném 1% agarozovém gelu. Gel je možno připravit povařením agarózy s TBE puřrem (1 x) v Erlenmeyerově baňce. Takto připravený agar byl v požadovaném množství přelit do výrazně označené Erlenmeyerovy baňky. Výrazné označení baňky znázorňuje kontaminaci ethidium bromidem. Do vychlazeného gelu na 50 - 60  $^{\circ}$ C byl pipetován ethidium bromid, jehož výsledná koncentrace v gelu byla 1 mg/ml. Do připravené elektroforetické vaničky byl vlit gel a ihned do něj byl vložen hřebínek pro vytvoření jamek. Takto připravený gel tuhnul zhruba po dobu 25 minut.

Po ztuhnutí byl hřebínek z gelu opatrně vyjmut, společně s postranními gumičkami. Miska s gelem byla vložena do elektroforetické nádoby a dolita TBE puřrem tak, aby gel byl ponořen. Elektroforetická separace probíhala při 90 V zhruba po dobu 1 hodiny.

Do první a poslední jamky bylo pipetováno 5  $\mu$ l markeru (MassRuler™ DNA Ladder Low Range). K PCR produktům byla přidána barva (6 x orange loading dye) v poměru 5 : 1. Následně byly DNA vzorky naneseny do ostatních jamek po 5  $\mu$ l. Za tyto jamky byla pipetovaná pozitivní kontrola, která má identifikovat bezchybnost pokusu v případě, že ostatní vzorky použité pro analýzu DNA budou zdravé. Do dalších jamk byly pipetovány ještě negativní kontroly, které měly prokázat, že pracovní postup proběhl bez vzájemné kontaminace vzorků. Zhruba po 1 hodině, bylo možné pomocí UV transiluminátoru v gelu pozorovat přítomnost/nepřítomnost DNA fragmentů.

## 5 Výsledky

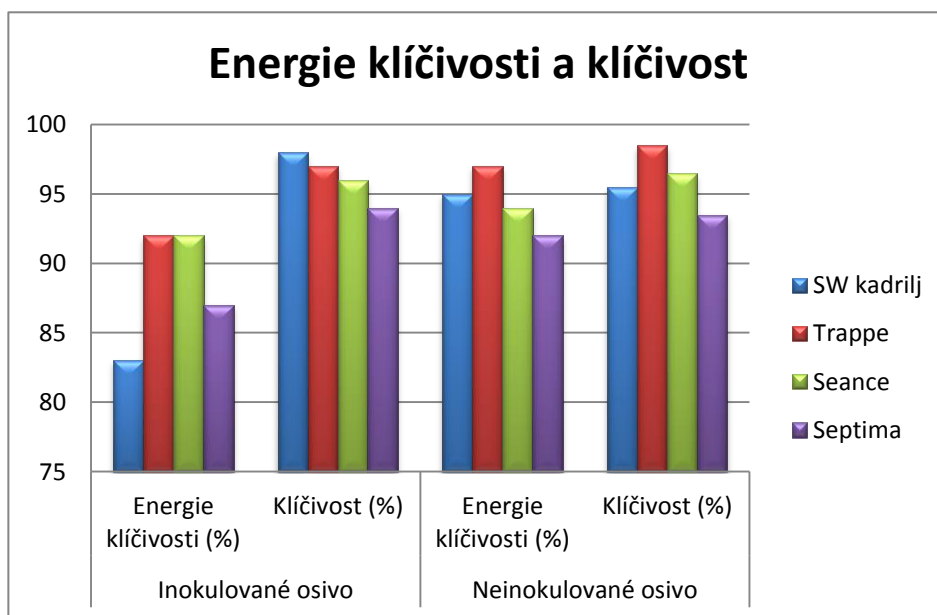
### 5.1 Hodnocení použitého osiva pšenice jarní

#### 5.1.1 Energie klíčivosti a klíčivost pšenice jarní

Následující tabulka č. 4 znázorňuje klíčivost a energii klíčivosti sledovaných odrůd s odlišným typem osiva.

Varianta	Inokulované osivo		Neinokulované osivo	
	Energie klíčivosti (%)	Klíčivost (%)	Energie klíčivosti (%)	Klíčivost (%)
SW Kadrijl	83	98	95	95,5
Trappe	92	97	97	98,5
Seance	92	96	94	96,5
Septima	87	94	92	93,5

Tab. č. 4 Výsledky klíčivosti a energie klíčivosti ve vlhké komůrce



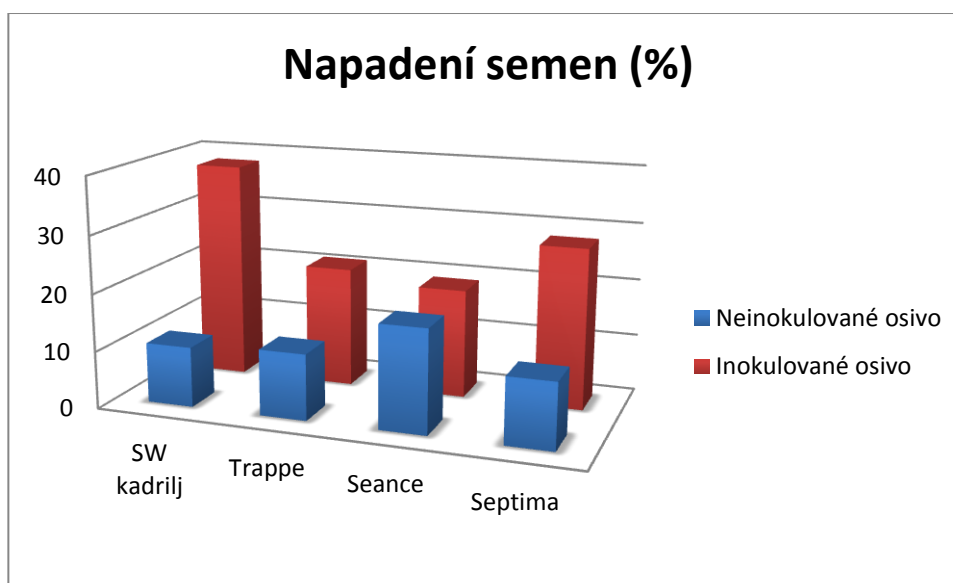
Graf č. 1 Klíčivost a energie klíčivosti osiva pšenice jarní

Z grafu č. 1 a z tabulky č. 4 je zřejmé, že energie klíčivosti dosahuje nižších hodnot u odrůd s inokulovaným osivem, hlavně u odrůdy SW Kadrijl. Naopak energie klíčivosti původního osiva – bez inokulace dosahuje v průměru 94,5 %. Klíčivost všech variant dosahuje téměř shodných výsledků. V průměru klíčivost dosahuje 96 %.

Při statistickém vyhodnocení průměrů vyklíčených rostlin ve vlhké komůrce dosahovala odrůda Septima nejnižších hodnot, což prokazuje v příloze graf č. 20 a výsledek nebyl statisticky průkazný. Současně nebyla statisticky prokázána rozdílnost mezi vyklíčenými rostlinami z inokulovaného osiva a z osiva původního – bez inokulace, což dokládá graf č. 21 v příloze.

### 5.1.2 Hodnocení napadení osiva ve vlhké komůrce

Graf č. 2 znázorňuje napadení osiva houbovými patogeny po týdení kultivaci ve vlhké komůrce.



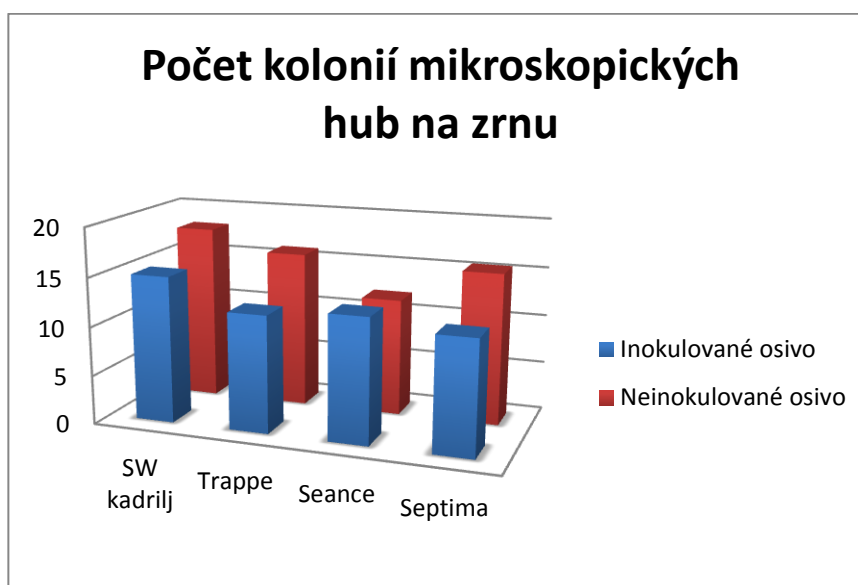
Graf č. 2 Hodnocení osiva napadeného patogeny ve vlhké komůrce

Patogeny vyskytující se na osivu jarní pšenice nebyly původci stejného rodu či druhu. Na inokulovaném osivu odrůd SW Kadrilj, Trappe a Septima byl detekován rod *Fusarium* spp. Osivo odrůdy SW Kadrilj bylo porostlé typickým růžovým myceliem. Pomocí mikroskopické metody bylo určeno, že se jedná o druh *Fusarium culmorum*. U odrůdy Trappe bylo osivo napadené převážně druhem *Fusarium avenaceum* a na osivu odrůdy Septima bylo detekováno *Fusarium graminearum*. Na osivu odrůdy Seance nebylo detekováno *Fusarium* spp., ale osivo bylo pokryto povlaky rodu *Penicilium*.

U osiva původního – bez inokulace bylo procentuální napadení o dost nižší než u osiva inokulovaného. Přítomnost rodu *Fusarium* v tomto osivu nebyl prokázán. Osivo bylo infikováno jinými patogenními organismy.

### 5.1.3 Hodnocení napadení osiva na živném médiu

Pro izolaci hub z osiva pšenice jarní byl použit agar Rose Bengal Agar Base (HIMEDIA). Kultivace probíhala ve tmě, při teplotě 20 °C po dobu 7 až 14 dní. Každá varianta měla tři opakování. Graf č. 3 znázorňuje počet kolonií mikroskopických hub u jednotlivých variant. Detekce mikroskopických hub byla provedena mikroskopickou metodou. Tabulka č. 5 znázorňuje detekované rody a druhy mikroskopických hub. Původní osivo se vyznačuje zastoupením nejrozumnějších rodů a druhů mikroskopických hub. U inokulovaného osiva byla ve všech variantách potvrzena přítomnost *Fusarium culmorum*. Jen u odrůdy Septima a SW Kadrilj byly zjištěny i jiné mikroskopické houby.



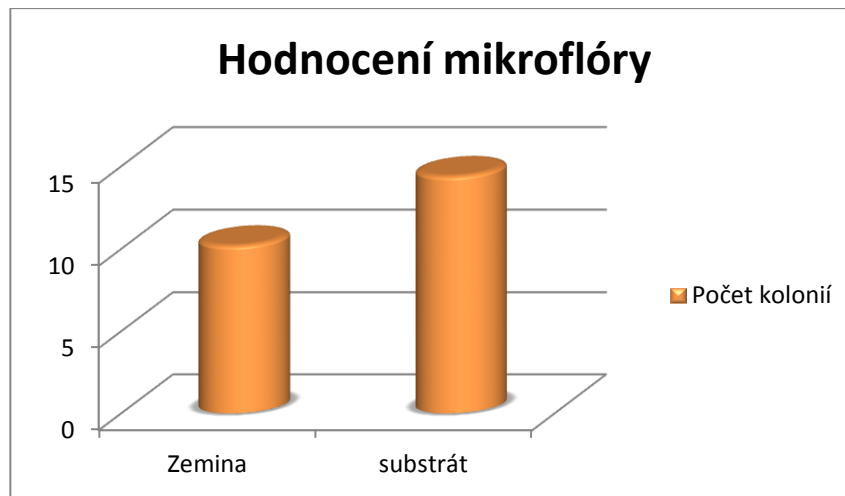
Graf č. 3 Počet kolonií mikroskopických hub na zrně

Izolace z osiva		
Odrůda	inokulované	původní
Septima	<i>F. culmorum</i> , 1x <i>Alternaria</i>	<i>Epicoccum</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Ulocladium</i>
	3x <i>Cladosporium</i>	<i>Nigrospora</i> , <i>Fusarium</i> spp.
Trappe	<i>F. culmorum</i>	<i>F. culmorum</i> , <i>Epicoccum</i> , <i>Nigrospora</i> ,
		<i>Ulocladium</i> , , <i>Rhizopus</i> , <i>Trichothecium</i> , <i>F. spp.</i>
SW Kadrilj	<i>F. culmorum</i> , 1x <i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Trichoderma</i> , <i>Chrysosporium</i>
	2x <i>Penicillium</i> , 1x <i>Rhizopus</i> , 2x <i>Cladosporium</i>	<i>Penicillium</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>Mucorales</i>
Seance	<i>F. culmorum</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Epicoccum</i> , <i>Alternaria</i> ,
		<i>Ulocladium</i> , <i>Botryosphaeria</i> , <i>Bipolaris</i> ,
		<i>Nigrospora</i>

Tab. č. 5 Mikroorganismy detekované na živném médiu

## 5.2 Hodnocení skleníkového (nádobového) pokusu

### 5.2.1 Hodnocení mikroflóry použité zeminy a substrátu



Graf č. 4 Hodnocení mikroflóry použitých zemin v nádobovém pokusu

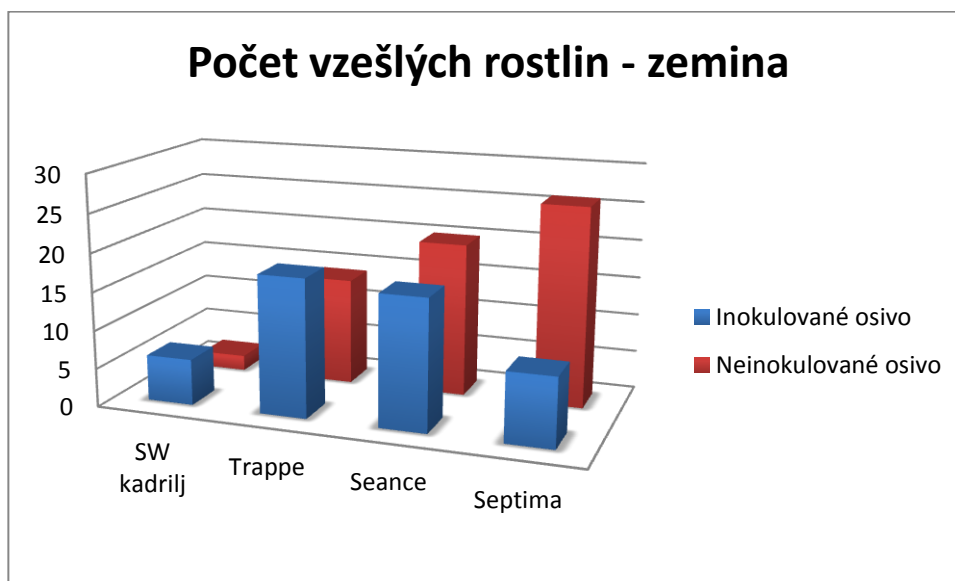
Hodnocená zemina má viditelně menší počet kolonií mikroskopických hub než zakoupený zahradnický substrát. Po mikroskopické determinaci bylo zjištěno, že zemina z provozního pozemku použitá v tomto pokusu se vyznačovala zástupci rodů *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Verticillium* a druh *Fusarium verticillioides*. Ze zahradnického substrátu byl izolován rod *Chrysosporium*, ojediněle rod *Trichoderma* a velké zastoupení zde měly bakterie. Ty mohou být důvodem lepší vzcházivosti rostlin, viditelné u nádobového pokusu (viz foto č.1).

### 5.2.2 Vzcházení jarní pšenice v nádobovém pokusu

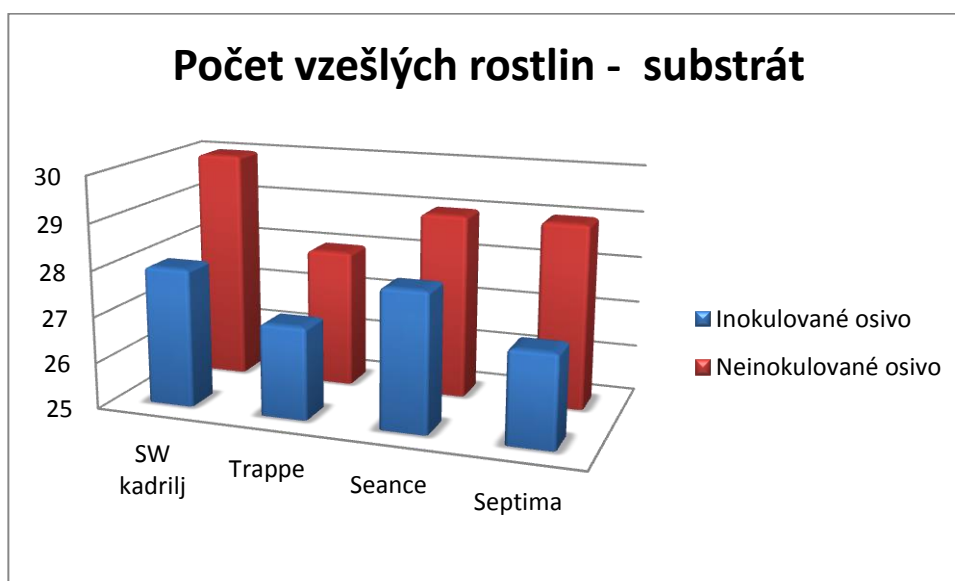
V prvním případě, kdy osivo bylo vyseto do zeminy z provozního pozemku, vzcházivost rostlin dosahovala průměrných hodnot. Z grafu č. 5 je zjevné, že ve vzcházivosti mezi inokulovaným a neinokulovaným osivem nebyl u odrůd Trappe a Seance téměř žádný rozdíl. Pouze odrůda Septima dosahovala mnohem lepší vzcházivosti z osiva původního než z osiva inokulovaného. Naopak odrůda SW Kadrijl měla v obou případech velmi špatnou vzcházivost. Průměrně její vzcházivost dosahovala maximálně 5 %.

Graf č. 6 znázorňuje vzcházivost stejných odrůd, ale v tomto případě se jedná o výsledky rostlin pěstovaných v kvalitním zahradnickém substrátu. Oproti předcházejícím výsledkům vzcházivost těchto rostlin dosahuje téměř 100%. Jen rostliny

z inokulovaného osiva dosahují nepatrně menší vzcházivosti než rostliny z osiva původního – bez inokulace.



Graf č. 5 Počet vzešlých rostlin v nádobovém pokusu v zemině z provozního pozemku

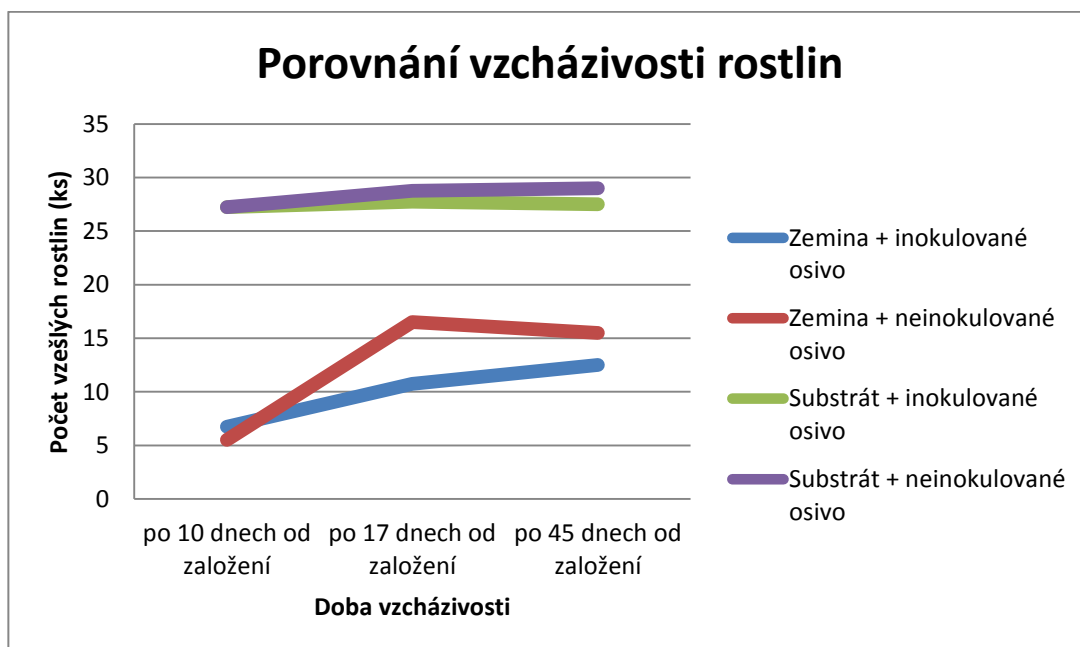


Graf č. 6 Počet vzešlých rostlin v nádobovém pokusu v zahradnickém substrátu

Následující graf č. 7 znázorňuje vzcházivost rostlin v různých půdních podmínkách. Osivo vyseté do zahradnického substrátu dosahovalo téměř 100 % vzcházivosti. Naopak osivo vyseté do zeminy z provozního pozemku ve všech variantách nedosáhlo ani 50 % vzcházivosti.



Inokulace osiva *Fusarium culmorum* neměla na vzcházivost rostlin téměř žádný vliv. V tomto pokusu byla vzcházivost rostlin ovlivněna především typem půdy, do které bylo osivo vyseto.



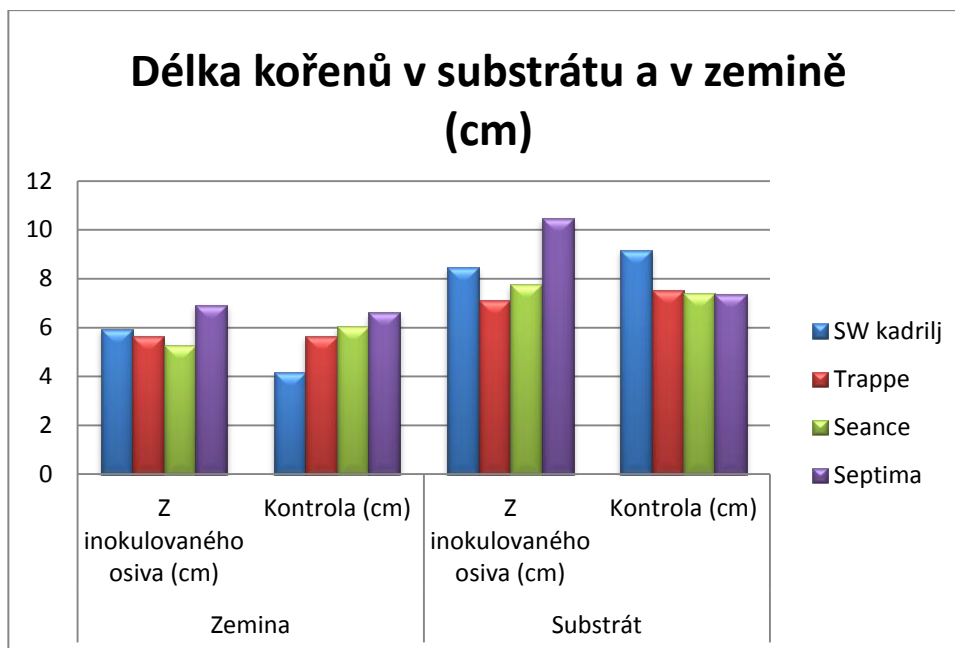
Graf č. 7 Vzcházivosti v substrátu a polní zemině

Při statistickém vyhodnocování byla hodnocena vzcházivost všech odrůd z hlediska půdních podmínek a následně i z hlediska různosti osiva. V obou případech nebyl prokázán statisticky významný rozdíl. Z důvodů stejných výsledků u všech odrůd jsou výsledky statistického šetření v příloze dokládány jen pro odrůdu Trappe (graf č.22, 23).

### 5.2.3 Hodnocení nadzemní části a kořenové soustavy rostlin

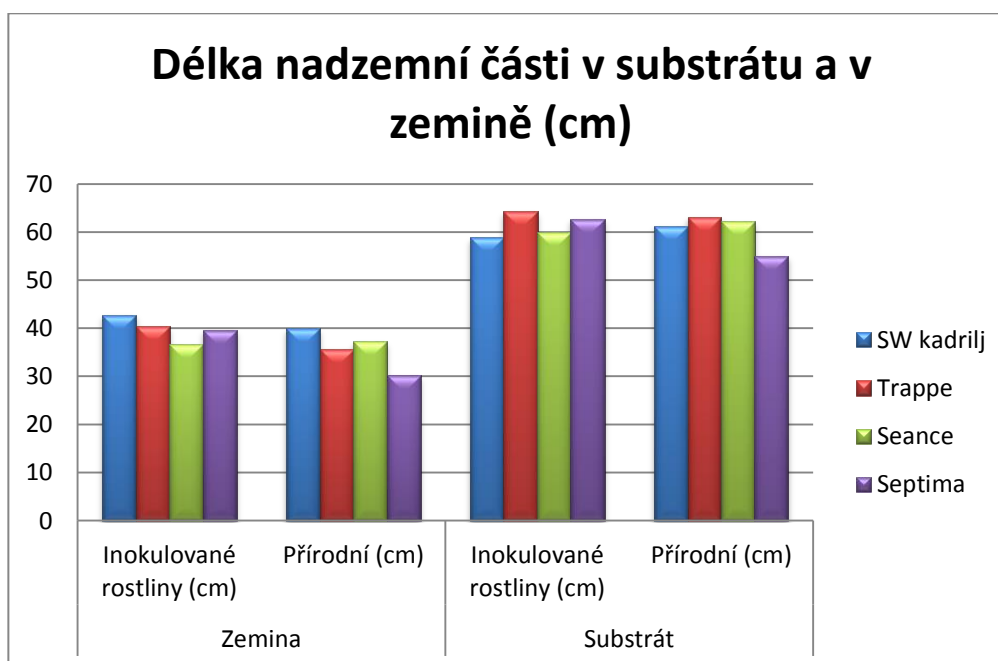
Součástí pokusu bylo hodnocení vzešlých rostlin. Porovnání délky kořenového systému a nadzemní části rostlin pěstovaných ve dvou různých zeminách. Hodnocen byl i zdravotní stav rostlin.

Na následujícím grafu č. 8 je viditelné, že rostliny pěstované v zahradnickém substrátu mají nepatrně vyvinutější kořenový systém, než rostliny pěstované v zemině z provozního pozemku. Typ osiva a druh odrůdy pšenice jarní kořenovou soustavu rostlin nijak neovlivnil.



Graf č. 8 Délka kořenů rostlin v odlišných půdách

Následující graf č. 9 znázorňuje pozitivní vliv zahradního substrátu na vývin nadzemní část rostlin, po porovnání s rostlinami pěstovanými v zemině z provozního pozemku. Rostliny pěstované v zahradnickém substrátu dosahují téměř o ½ větší délky. Opět se potvrzuje, že inokulace osiva *Fusarium culmorum* a typ odrůda pšenice jarní nemají vliv na vývin nadzemní části rostlin.



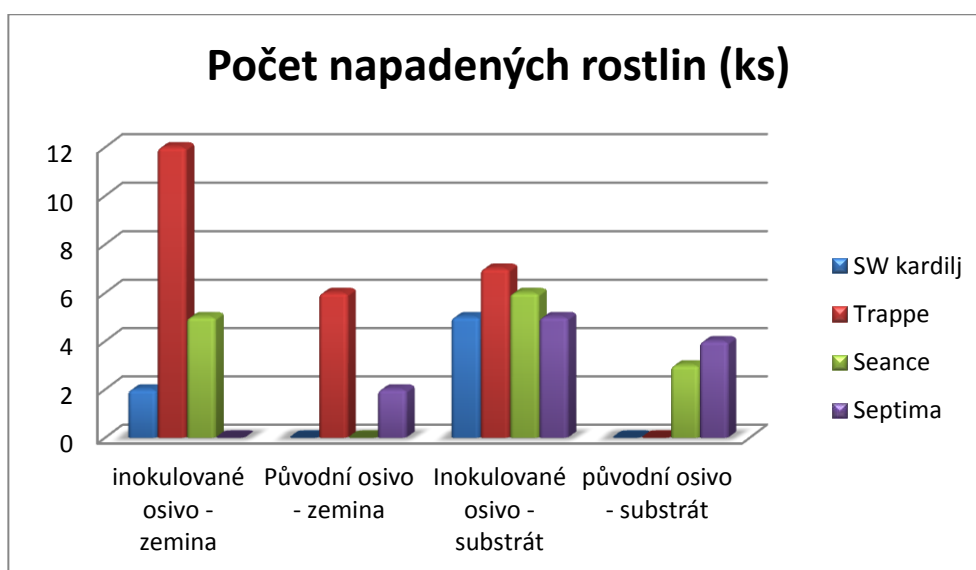
Graf č. 9 Délka nadzemní části rostlin v odlišných půdách



Foto č. 1 Porovnání rostlin pěstovaných v odlišných půdách v roce 2013, foto Markéta Venclová

Fotografie č. 1 znázorňuje odrůdy pšenice jarní pěstované v odlišných půdách. Rostliny pěstované v zemině z provozního pozemku jsou menšího vzrůstu, světle zelené barvy, křehké s málo vyvinutými pleťvami (rostliny na levé straně fotografie). Naopak rostliny pěstované v zahradnickém substrátu jsou většího vzrůstu, tmavě zelené barvy s dobře vyžralými pleťvami (rostliny na pravé straně fotografie).

Součástí hodnocení rostlin byla diagnostika napadených rostlinných pleťv. Nejprve byla využita metoda symptomatická, která je vhodná pro okamžité určení onemocnění napadených rostlin.



Graf č. 10 Počet napadených rostlin z nádobového pokusu

Na předchozím grafu č. 10 je viditelné, že nejvíce napadených rostlin bylo zaznamenáno u odrůdy Trappe z inokulovaného osiva, vysetého do zeminy z provozního pozemku. Napadení dosahovalo až 40 %. U všech odrůd s inokulovaným osivem, vysetých do zahradnického substrátu bylo, zjištěno napadení odpovídající 20 %. Nejmenší napadení bylo zaznamenáno u odrůd z původního osiva, vysetých do zeminy z provozního pozemku a zahradnického substrátu. Na odrůdách Trappe a Septima z inokulovaného osiva bylo detekováno padlí. U odrůd SW Kadrijl a Trappe bylo zjištěno fyziologické poškození.

Pro přesnější znázornění poškozených rostlin, byly rostliny rozděleny čtyř skupin podle intenzity napadení:

- 1 ..... zdravé (nenapadené) rostliny
- 2 ..... slabě napadené rostliny
- 3 ..... středně napadené rostlin
- 4 ..... silné napadení rostlin

### **Stupnice znázorňující intenzitu napadení:**



Foto č. 2: Skupina 1 - Zdravá (nenapadená) rostlina, foto Markéta Venclová



Foto č. 3: Skupina 2 – Slabě napadená rostlina, foto Markéta Venclová



Foto č. 4: Skupina 3 – Středně napadené rostliny, foto Markéta Venclová



Foto č. 5: Skupina 4 – silně napadené rostliny, foto Markéta Venclová

Pro přesnější detekci patogenů v rostlinných pletivech bylo využito metody izolace na umělé živné půdě a následně mikroskopické determinace získaných izolátů. Základem této metody jsou morfologické znaky původce onemocnění.

Vzorky rostlin získané z nádobového pokusu byly použity pro detekci mikroskopických hub. Odebrány byly části rostlinného pletiva z nadzemní části rostlin a kořenového systému. Pomocí mikroskopické metody bylo detekováno několik rodů a konkrétních druhů mikroskopických hub. Následující tabulka č. 6 znázorňuje izolované houby na nadzemních částech rostlinného pletiva.

<b>Inokulované osivo</b>			
<b>odrůda</b>	<b>opakování</b>	<b>SUBSTRÁT</b>	
		<b>rostliny s příznaky</b>	<b>rostliny bez příznaků</b>
<b>Septima</b>	1	<i>F. culmorum</i>	<i>F. culmorum</i>
	2	<i>F. culmorum</i>	<i>Epicoccum, Alternaria,</i>
			<i>Itersonilia</i>
<b>Trappe</b>	1	<i>F. culmorum</i>	<i>Alternaria, Gliocladium</i>
	2	<i>F. culmorum</i>	<i>F. culmorum</i>
<b>SW Kadrijl</b>	1	<i>F. culmorum</i>	<i>F. culmorum</i>
	2	<i>F. culmorum</i>	<i>F. culmorum</i>
<b>Seance</b>	1	<i>F. culmorum</i>	nic
	2	<i>F. culmorum</i>	nic
<b>odrůda</b>	<b>opakování</b>	<b>ZEMINA</b>	
		<b>rostliny s příznaky</b>	<b>rostliny bez příznaků</b>
<b>Septima</b>	1	<i>F. culmorum</i>	<i>Epicoccum, Cladosporium</i>
	2	<i>Alternaria, Rhizoctonia</i>	<i>Cladosporium</i>
<b>Trappe</b>	1	<i>Microdochium</i>	<i>Acremonium</i>
	2	<i>Fusarium sp.</i>	nic
<b>SW Kadrijl</b>	1	<i>F. culmorum</i>	<i>F. culmorum</i>
	2	<i>F. culmorum</i>	sterilní mycelium
<b>Seance</b>	1	<i>F. culmorum</i>	<i>F. culmorum</i>
	2	<i>F. culmorum</i>	<i>F. culmorum, sterilní mycelium</i>

Tab č. 6 Determinované izolované rody a druhy mikroskopických hub na nadzemních částech rostlin z inokulovaného osiva

Tabulka č. 6 znázorňuje, že u rostlin s příznaky mimo odrůdy Trappe byl detekován konkrétní druh *Fusarium culmorum*. U rostlin bez příznaků dominovaly i jiné rody mikroskopických hub.

U rostlin pěstovaných v zahradnickém substrátu byla z 87,5 % v jejich pletivech prokázána přítomnost *Fusarium culmorum*. Přítomnost této fytopatogenní

houby byla také ze 75 % prokázána v pletivech rostlin pěstovaných v zemině z provozního pozemku.

<b>Původní osivo</b>			
<b>odrůda</b>	<b>opakování</b>	<b>SUBSTRÁT</b>	
		<b>rostliny s příznaky</b>	<b>rostliny bez příznaků</b>
<b>Septima</b>	1	jen bakterie	jen bakterie
	2	jen bakterie	jen bakterie
<b>Trappe</b>	1	<i>F. sp., Cladosporium</i>	<i>Humicola</i> , sterilní mycelium
	2		
<b>Kadrilj SW</b>	1	<i>Alternaria</i> , sterilní	nic
	2	<i>F. sp.</i> ,	nic
<b>Seance</b>	1	<i>F. sp.</i> ,	nic
	2	<i>F. sp.</i> , sterilní mycelium	<i>Humicola</i> , bakterie
<b>odrůda</b>	<b>opakování</b>	<b>ZEMINA</b>	
		<b>rostliny s příznaky</b>	<b>rostliny bez příznaků</b>
<b>Septima</b>	1	<i>F. sp., F. poae, Alternaria</i>	<i>Epicoccum</i> , sterilní mycelium
	2	<i>Alternaria. F. sp.</i>	<i>Rhizoctonia</i>
<b>Trappe</b>	1	<i>F. sp., Rhizopus</i>	<i>Epicoccum, Penicillium, Rhizopus</i>
	2	<i>F. sp., Alternaria,</i>	<i>Rhizopus</i>
		<i>Microdochium</i>	
<b>Kadrilj SW</b>	1	<i>Microdochium</i>	<i>Penicillium Epicoccum</i>
	2	<i>Rhizoctonia, Alternaria</i>	sterilní mycelium; Oomycetes (2 kolonie)
<b>Seance</b>	1	<i>Alternaria, Rhizopus</i>	<i>Penicillium</i>
	2	<i>Rhizoctonia, Alternaria</i>	nic

Tab. č. 7 Determinované izolované rody a druhy mikroskopických hub na nadzemních částech rostlin z původního osiva

Tabulka č. 7 znázorňuje rody a druhy detekovaných mikroorganických hub na/v původním osivu – bez inokulace. U rostlin bez příznaků nebyla prokázána přítomnost *Fusarium culmorum*.

V pletivech rostlin s příznaky byla prokázána přítomnost *Fusarium sp.* U rostlin vypěstovaných v zahradním substrátu přítomnost *Fusarium sp.* dosahuje 37,5 %, naopak u rostlin pěstovaných v zemině z provozního pozemku přítomnost *Fusarium sp.* v pletivech rostlin dosahovala 25 %.

Četnost rodu *Fusarium* na kořenech a bázích rostlin se opět různí podle druhu půdy, v kterém byly rostliny pěstovány a typem osiva. Vyšší zastoupení *Fusarium* opět dosahovaly kořeny a báze z rostlin vypěstovaných z osiva inokulovaného. V obou typech půd výskyt toho patogenu dosahoval téměř 90 %. V opačném případě rostliny vypěstované z původního osiva dosahovaly rozdílných výsledků podle typu půdy ve které byly pěstovány. V substrátu výskyt *Fusarium* spp. dosahoval pouhých 37,5 % u problematické půdy až 62,5 %.

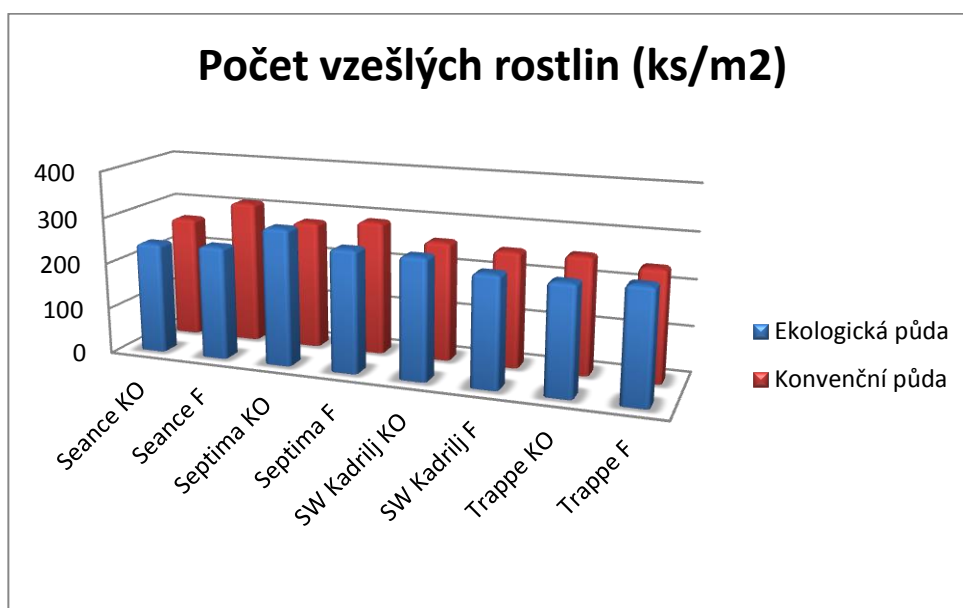
Z těchto výsledků vyplývá, že houba rodu *Fusarium* je jednoznačně přítomná v rostlinách pěstovaných z inokulovaného osiva, vyšetých v obou typech půd. V případě rostlin pěstovaných z původního osiva – bez inokulace výskyt *Fusarium* spp. dosahoval nižších hodnot než u rostlin pěstovaných z inokulovaného osiva.

## 5.3 Hodnocení polního pokusu

### 5.3.1 Pozorování během vegetace

Od založení porostu proběhlo na parcelkách v Praze - Uhřetěvesi několik prohlídek porostu. První proběhla zhruba měsíc od založení porostu. Na některých odrůdách bylo zaznamenáno slabé poškození kohoutkem černým – *Oulema melanopus* a brunkou ječnou – *Oscinella frit*. Výskyt jakékoliv choroby zde nebyl zaznamenán.

Po porovnání porostů bylo zjevné, že porosty vyvíjející se z osiva inokulovaného *Fusarium culmorum* byly vyrovnanější, zapojenější než v případě porostu kontroly.

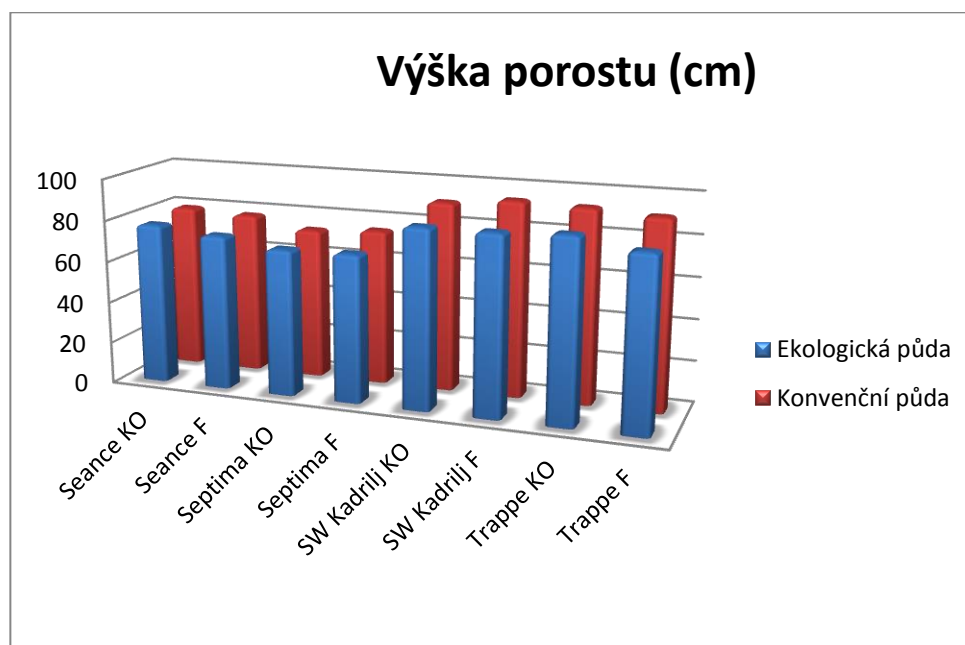


Graf č. 11 Vzcházivosti rostlin na ploše konvenční a ekologické ze dne 23.4.2013



Z grafu č. 11 vyplývá, že rostliny pěstované na konvenční ploše mají nepatrně vyšší vzcházivost než rostliny pěstované na ekologické půdě. U variant pěstovaných z inokulovaného osiva není zaznamenána odlišná vzcházivost oproti kontrolám. Znovu se potvrzuje, že inokulované osivo *Fusarium culmorum* nemělo na vzcházení rostlin žádný vliv.

Při statistickém vyhodnocování byla hodnocena vzcházivost všech odrůd z hlediska půd v kterých byly rostliny pěstovány a následně i z hlediska typu osiva. V obou případech nebyl prokázán statisticky významný rozdíl. Z důvodů stejných výsledků u všech odrůd jsou výsledky statistického šetření v příloze dokládány jen pro odrůdu Trappe (graf č. 24, 25).

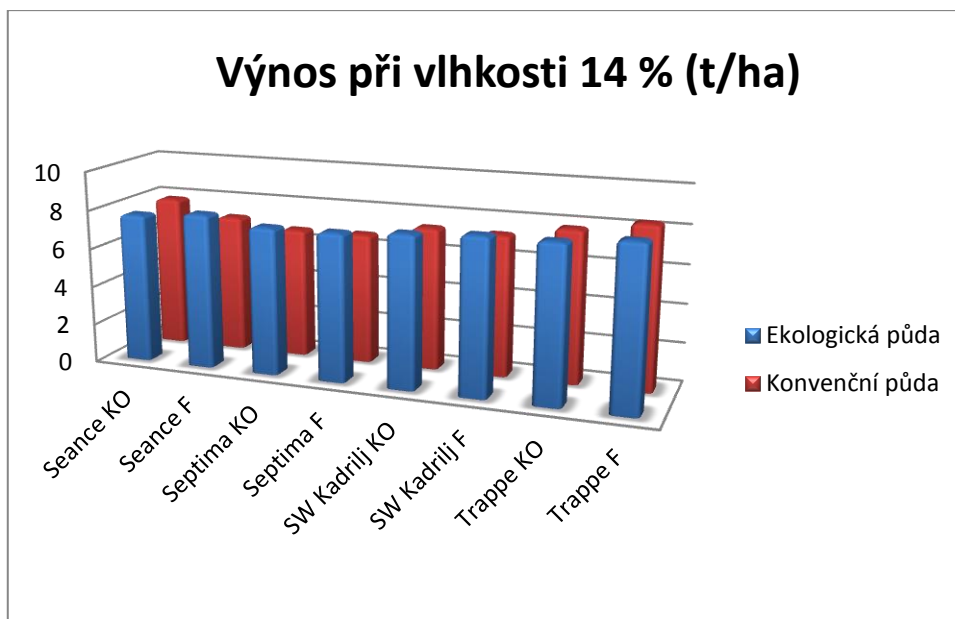


Graf č. 12 Výška porostu na konvenční a ekologické ploše ze dne 31.7.2013

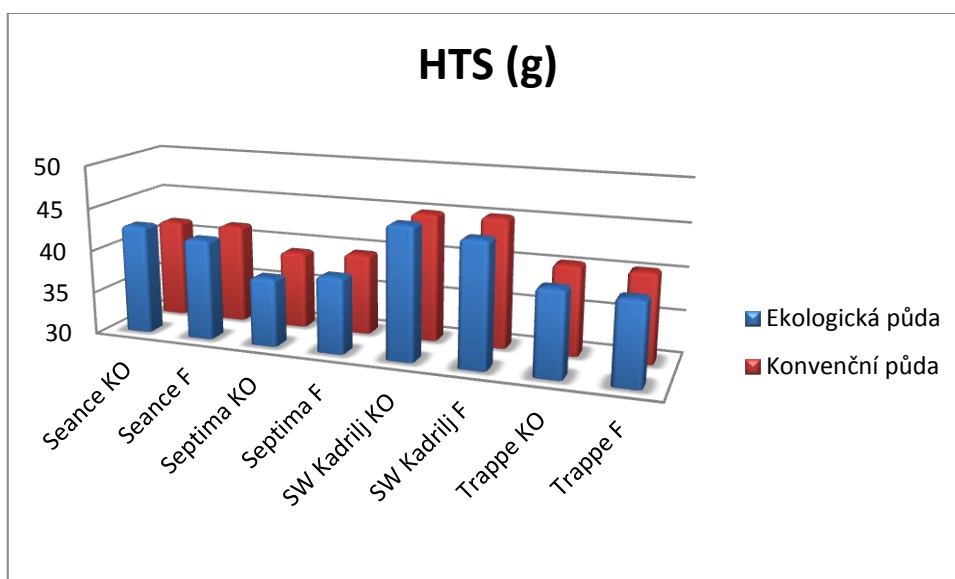
Graf č. 12 znázorňuje, že rostliny pěstované na ekologické půdě dosahují nepatrně menšího vzrůstu než rostliny pěstované v konvenční půdě. Opět inokulované osivo *Fusarium culmorum* a odrůda neměla na výšku porostu vliv.

### 5.3.2 Výsledky pěstování pšenice jarní v Praze – Uhříněvsi

Z grafu č. 13 je zřejmé, že všechny varianty pšenice jarní jak v podmínkách ekologických tak v podmínkách konvenčních dosahuje téměř stejných výnosů. Výnosy všech variant z ekologické plochy dosahují v průměru 7,75 t/ha. Varianty pěstované na půdách konvenčních dosahují o 4,3 % nižších výnosů.

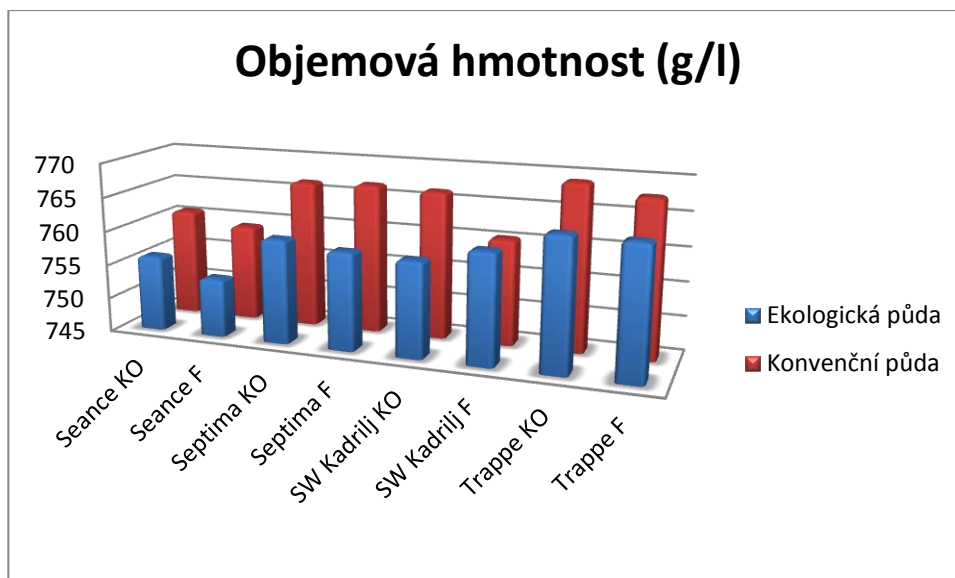


Graf č. 13 Výnos při vlhkosti 14 %



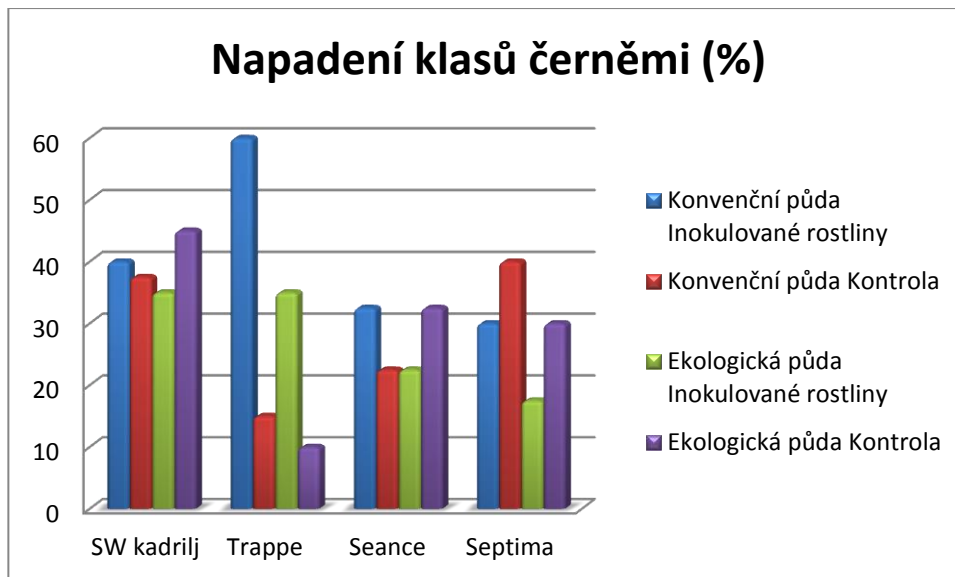
Graf č. 14 HTS (g) sklizeného osiva

Graf č. 14 znázorňuje výslednou hmotnosti tisíce semen (HTS) ze sklizeného osiva. Z výsledků je patrné, že stanoviště ani typ osiva, ze kterého rostliny byly pěstovány, nemají vliv na konečnou HTS.



Graf č. 15 Objemová hmotnost (g/l) sklizeného osiva

Vyšší objemová hmotnost byla zjištěna u odrůd pěstovaných na konvenční půdě. Vyjímkou byla pouze odrůda SW Kadrij. Z hlediska odrůd jsou výsledky nepatrně rozdílné. Z pohledu osiva, inokulace osiva *Fusarium culmorum* neměla na výsledek vliv.



Graf č. 16 Procentuální napadení klasů pšenice jarní černěmi

Z důvodu vysokého výskytu černí na klasech bylo současně provedeno hodnocení i tohoto onemocnění. Největší napadení bylo zjištěno u odrůdy Trappe z inokulovaných rostlin, pěstované na konvenční ploše (viz graf č. 16). Chemické ošetření nebylo provedeno na žádné variantě.

### 5.3.3 Hodnocení klasů pšenice jarní v laboratorních podmínkách

Z každé varianty bylo odebráno dne 22.8.2013 náhodně 20 klasů pšenice jarní. Po odebrání bylo symptomatickou metodou hodnoceno napadení *Fusarium culmorum*.

Projev této choroby byl potvrzen pouze na klasech odrůdy Trappe s 10 % výskytem a u odrůdy Seance, kde výskyt toho onemocnění dosahoval pouhých 5 %. Obě varianty byly pěstované z inokulovaného osiva a pěstovány v podmínkách ekologického zemědělství. V ostatních variantách nebyla přítomnost houby rodu *Fusarium* zaznamenána.

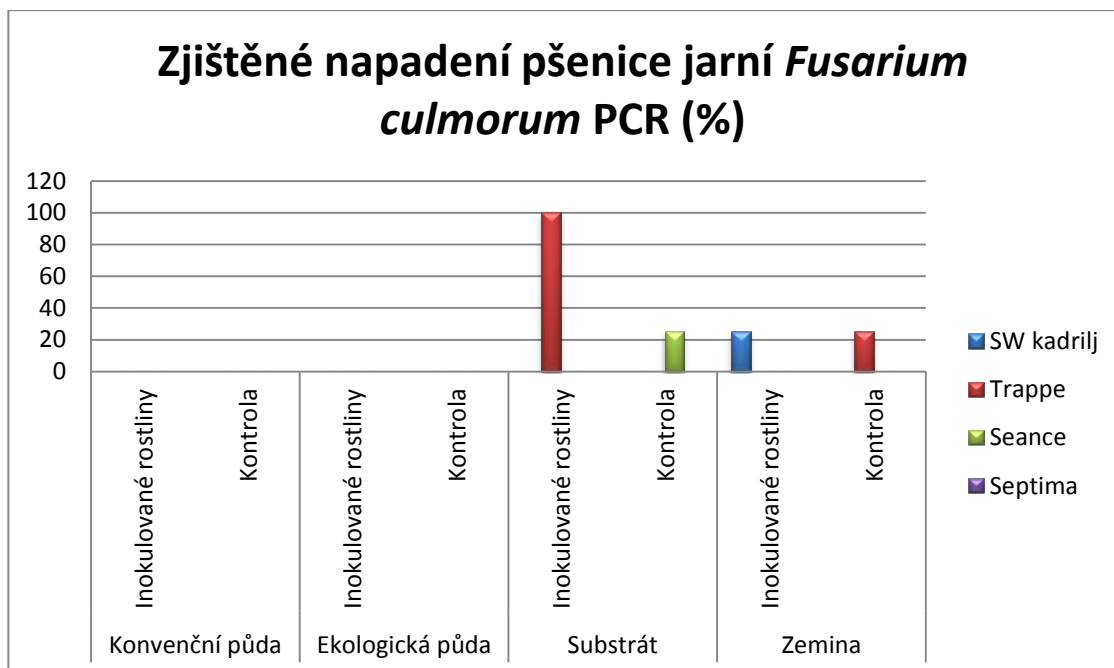
### 5.3.3 Výsledky PCR metody pro detekci *Fusarium culmorum* v pletivech pšenice jarní

Pro uskutečnění metody PCR byly odebrány vzorky rostlin jak z nádobového pokusu, tak z polního pokusu.

Z hlediska polního pokusu, založeného na plochách pokusné stanice v Uhříněvsi nedošlo k prokázání *Fusarium culmorum* u žádné varianty. Testované rostliny dosahovaly 0 % výskytu této houby ve svých pletivech.

Výskyt nežádoucí houby v pletivech rostlin byl s jistotou prokázán u rostlin z inokulovaného osiva odrůdy Trappe, pěstované v zahradnickém substrátu ve skleníku. Z 25 % bylo *Fusarium culmorum* zjištěno ještě u odrůdy Seance – kontroly pěstované v zahradnickém substrátu. Stejně procento bylo zjištěno i u odrůdy SW Kadrijl z inokulovaného osiva a odrůdy Trappe z původního osiva, pěstované v kontaminované půdě.

Z hlediska prokazatelnosti výskytu *Fusarium culmorum* v pletivech pšenice jarní je 25 % nedostačující. Z toho vyplývá, že prokazatelný výskyt této houby byl zjištěn pouze u odrůdy Trappe pěstované z inokulovaného osiva v zahradnickém substrátu ve skleníkovém pokusu. Toto zjištění je znázorněno na následujícím grafu č. 17.



Graf č. 17 Výskyt *Fusarium culmorum* v pleťevch sledovaných odrůd pšenice jarní



Obrázek č. 1 Příklad elektroforetické separace PCR produktů po amplifikaci s primery OPT18F a OPT18R.

**M** - molekulární marker (MassRuler™ DNA Ladder Low Range, Fermentas)

**1, 2, 3, 4** - odrůda Trappe (z inokulovaného osiva *Fusarium culmorum*, pěstované v zahradnickém substrátu) - infikovaná *Fusarium culmorum* (4 opakování)

**5, 6, 7, 8** - odrůda Trappe (z původního osiva – bez inokulace, pěstované v zahradnickém substrátu) - neinfikovaná *Fusarium culmorum* (4 opakování)

**9** - negativní kontrola (zdravá rostlina pšenice)

**10** - pozitivní kontrola (izolát *F. culmorum*)

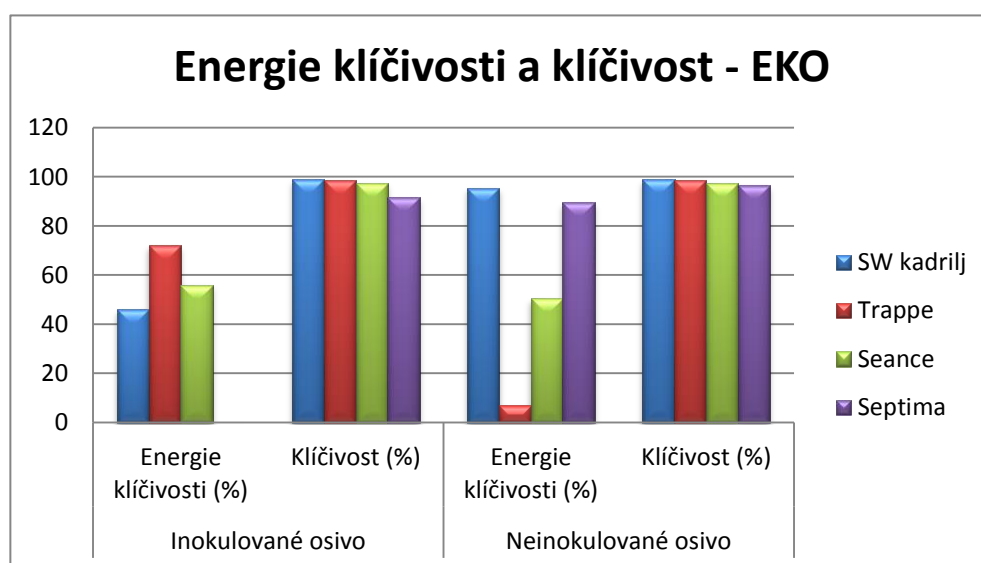
**11** - negativní kontrola (voda)

Obrázek č. 1 zobrazuje elektroforetickou separaci PCR produktu po amplifikaci s primery OPT18F a OPT18R, kde 1 – 4 jednoznačně prokazuje přítomnost *Fusarium*

*culmorum* ve vzorcích. Opakem je 5 - 8, kde není prokázána přítomnost *Fusarium culmorum*. Při reakci namnožená sekvence DNA dosahovala délky 472 bp.

## 5.4 Hodnocení sklizeného osiva pšenice jarní

Následující graf č. 18 a tabulka č. 8 znázorňují energii klíčivosti a klíčivost nově sklizeného zrna. Klíčivost osiva získaného z rostlin pěstovaných na ekologické ploše dosahuje u všech variant téměř 100 %. Energie klíčivosti dosahuje nižších hodnot než osivo z předchozího roku.



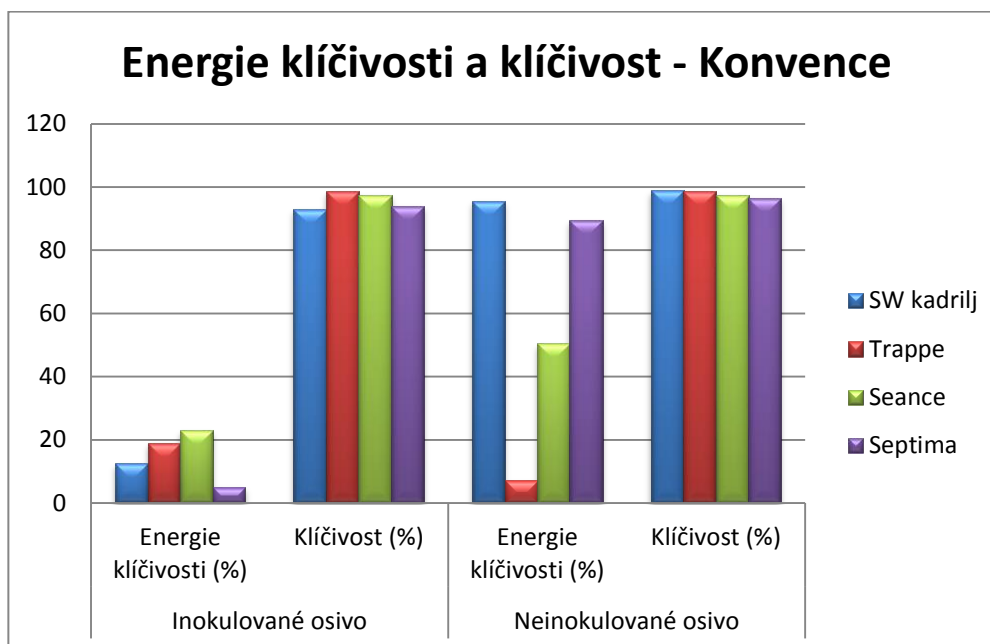
Graf č. 18 Klíčivost a energie klíčivosti sklizeného osiva pšenice jarní na ekologické ploše, Praha - Uhříněves

Ekologická plocha				
Varianta	Inokulované osivo		Neinokulované osivo	
	Energie klíčivosti (%)	Klíčivost (%)	Energie klíčivosti (%)	Klíčivost (%)
SW kadrilj	46	99	95,5	99
Trappe	72	98,5	7	98,5
Seance	56	97,5	50,5	97,5
Septima	0	91,5	89,5	96,5

Tab. č. 8 Klíčivost a energie klíčivosti sklizeného osiva pšenice jarní na ekologické půdě, Praha - Uhříněves

Graf č. 19 a tabulka č. 9 zobrazují klíčivost a energii klíčivosti osiva získaného z porostu pěstovaného v konvenčních podmínkách. Energie klíčivosti u variant s inokulovaným osivem je až zanedbatelná. U osiva původního – bez inokulace je

energie vyšší mimo odrůdu Trappe. Naopak klíčivost dosahuje ve všech variantách téměř 100 %.



Graf č. 19 Klíčivost a energie klíčivosti sklizeného osiva pšenice jarní na konvenční půdě, Praha - Uhříněves

Konvenční půda				
Varianta	Inokulované osivo		Neinokulované osivo	
	Energie klíčivosti (%)	Klíčivost (%)	Energie klíčivosti (%)	Klíčivost (%)
SW Kadrilj	12,5	93	95,5	99
Trappe	19	98,5	7	98,5
Seance	23	97,5	50,5	97,5
Septima	5	94	89,5	96,5

Tab. č. 9 Klíčivost a energie klíčivosti sklizení osiva pšenice jarní na ekologické půdě, Praha - Uhříněves

## 6 Diskuze

Cílem diplomové práce bylo potvrzení nebo vyvrácení opodstatněnosti stanovených limitů *Fusarium* spp. v/na osivu jarní pšenice pro ekologické zemědělství. Pokusy byly zaměřeny na vliv houby *Fusarium culmorum* (která byla použita jako modelový organismus) v porostech pšenice jarní u vybraných odrůd. Pro realizaci pokusů bylo využito osivo původní a osivo inokulované *Fusarium culmorum*. Pokusy klíčivosti, vzcháživosti a vývinu rostlin byly sledovány jak v laboratorních, skleníkových, ale i polních podmínkách. V každém prostředí byly využity jiné půdní podmínky.

Pro rostlinou produkci je důležité používat pouze kvalitní rozmnožovací materiál (Finch-Savage, 2004). Souhlasím s Girsen a Weinhappel (2004), že osivo je základem pro vitální a zdravé plodiny, které jsou základem produkce vysoce kvalitních a zdravých krmiv a potravin. Zdravotní stav má velký vliv na hodnotu osiva a jejího následného praktického využití. To je zvláště důležité u osiva ekologického zemědělství.

Zdravotnímu stavu osiva je věnovaná celosvětová pozornost. Kvalita a požadovaný zdravotní stav osiva je podstatou snižování pesticidních aplikací do porostu (Prokinová, 2013a).

Hosnedl a Honsová (2007) potvrzují, že správně stanovený výsek, vitalita osiva a vhodně připravený pozemek mají pozitivní vliv na vypěstování kvalitního porostu. To se odráží v počtu rostlin na jednotce plochy, rychlosti růstu a vyrovnanosti porostu.

V konvenčním zemědělství se často nesetkáváme s nedostatkem osiva některých plodin, už jen proto jaké metody je možné použít na ochranu semen. Opačný problém ale řeší ekologičtí pěstitelé. Jak uvádí Capouchová a kol. (2012), ekologické zemědělství se v poslední době rozvíjí velmi rychle a to na celém světě. V současnosti ve většině zemí, ale nastává problém nedostatku certifikovaného ekologického osiva. Nedostatek osiva se týká většiny plodin, ale hlavně obilovin, které patří k nejpěstovanějším plodinám ekologického zemědělství. S tímto problémem se potýkají také ekologičtí zemědělci v České republice. Souhlasím s Urbanem (2011), který hovoří o stále nízké nabídce bioosiv na českém trhu po porovnání se západními zeměmi. Konvalina a kol. (2013) poukazuje na to, že získané množství certifikovaného osiva obilnin z uznaných množitelských ploch pokryje potřebu bioosiv pouze z 10 %. Souhlasím s Urbanem (2011), že z tohoto důvodu se dnes v ekologickém zemědělství



z 50 – 60 % používají nežádoucí farmářská osiva. Capouchová a kol. (2012) potvrzuje, že hlavní příčinou je nedostatečné množství ploch pro množení ekologického osiva. Současně Konvalina a kol. (2013) a uvádí, že za poslední 3 roky se množitelské plochy bioosiv v ČR ještě snížily zhruba o 30 % s výjimkou olejnin. Z výměry uznaných množitelských ploch ekologického osiva obilniny zauímají cca 44 %.

Souhlasím s Capouchovou a kol. (2012), že současně většina bioosiva bývá infikována houbovými patogeny přenosnými osivem. Přísné normy stanovující obsah těchto patogenů v osivu by se mohly v budoucnu změnit.

Právě v této diplomové práci jde o to potvrdit nebo vyvrátit zda zmíněné normy nejsou příliš přísné a jestli není potřeba je změnit. Práce je zaměřena na jeden z nejzávažnějších patogenů přenosných osivem a to *Fusarium culmorum*. Souhlasím s Bakerem (1975) který tvrdí, že patogen přenosný osivem, nejčastěji nekrotrofní houby, způsobují problémy související se vzházivostí rostlin a odumíráním klíčících rostlin.

Provedené pokusy v této práci popsané v předchozích kapitolách naznačují, že při povrchové kontaminaci osiva *Fusarium culmorum* se nemusí v porostu plodin onemocnění vůbec projevit nebo jen v minimálním množství. Naopak u variant s inokulovaným osivem byly vzešlé porosty vyrovnanější a vybarvenější, oproti variantám vypěstovaných z původního osiva. Dalo by se říct, že *Fusarium* v tomto případě podporovalo vzházivost rostlin.

Konvalina a kol. (2013) uvádí výsledky pokusu, kde byly hodnoceny biologické vlastnosti osiva různého původu a zdravotní stav osiva pšenice jarní. Hodnoceno bylo farmářské osivo, certifikované ekologické osivo a konvenční osivo. V případě konvenčního osiva a ekologického certifikovaného osiva byl výskyt *Fusarium* spp. poměrně nízký. Naopak vyšší výskyt této houby signalizovalo farmářské osivo. Při porovnání kontaminace osiva s energií klíčivosti a vzházivostí byly lepší výsledky zaznamenány u osiv s vyšší kontaminací, tedy u osiva farmářského. Přesto nelze potvrdit, že vyšší kontaminace osiva měla vliv na lepší vzházivost. Důvodem může být rozdílná vitalita osiva, výživový stav apod.

Pro konvenční zemědělství platí stejně přísné normy jako pro ekologické zemědělství. Rozdíl nastává v metodách, které během pěstování plodin mohou tyto dva typy zemědělství využít. Zmíněné choroby přenosné osivem může konvenční zemědělec ovlivnit několika způsoby. Například vyváženou výživou ve formě minerálních hnojiv nebo aplikací pesticidních látek (Capouchová a kol., 2012).

Capouchová a kol. (2012) uvádí výsledky pokusů zaměřených na provenienci semen. Posuzováno bylo certifikované ekologické osivo, konvenční neošetřené osivo a farmářské osivo. Z hlediska biologických charakteristik na následující generaci se ukázalo, že zmíněná osiva dosahovala kvalitní úrovně. Přesto nejlépe dopadlo osivo certifikované.

Souhlasím s Urbanem (2011), který tvrdí, že při častém používání farmářských osiv na jedné ploše, snižuje kvalitu a současně i zdravotní stav osiva. Tyto zhoršené vlastnosti osiva se promítají i do následných výnosů.

Bláha a kol. (2013) uvádí vliv proveniencie na kvalitu osiva v různých podmínkách. V horších podmínkách je nutná zvýšená pozornost přípravě osiva a úpravě stanoviště. Kvalitně připravené půda v těchto lokalitách se pozitivně promítne i do kvality porostů a následné generace.

Polní pokusy popisované a hodnocené v této diplomové práci jsou získány z ploch v Praze-Uhřetěvesi. Samotné výsledky naznačují, že výskyt patogenní houby *Fusarium culmorum* nebyl na těchto plochách a v tomto neošetřovaném pokusu téměř zaznamenán. I přes to, že některé varianty byly účelně uměle inokulovány *Fusarium culmorum*. Stanoviště na kterém pokus probíhal, je řazeno mezi velmi dobré lokality. Proto by bylo vhodné stejný pokus opakovat i na dalších stanovištích.

U rostlin jak z nádobového pokusu, tak z polního pokusu nebyla prokazatelně symptomaticky viditelná přítomnost *Fusarium* spp. ani u variant, kde osivo bylo záměrně inokulováno *Fusarium culmorum*.

Souhlasím s Majumder et al. (2013), že včasná detekce patogenů je základní krok k diagnostice a případné ochraně. Neschopnost včasné identifikace a odhalení rostlinných patogenů vedla ke vzniku nových technik detekce. Příkladem je metoda založena na bázi nukleových kyselin. Tato metoda nazývaná se PCR je typická vysokým stupněm citlivosti, specifíčnosti, používané pro detekci *Fusarium* spp., neboť zvýšená citlivost této metody odhalí i stopy inokula.

V diplomové práci byla metoda PCR využita pro potvrzení symptomatické metody, která nepotvrdila přítomnost *Fusarium culmorum* v/na rostlinách pěstovaných z osiva inokulovaného touto houbou.

I přes vysoké náklady se v současné době stále častěji PCR stává nezastupitelnou součástí diagnostických laboratoří a kontrolních úřadů. Vývoj této metody v budoucnu může vést k detekci většího počtu patogenů a tím i opouštění od tradičních metod detekce (Majumder et al., 2013).

## 7 Závěr

- V laboratorních podmínkách byla potvrzena přítomnost houby *Fusarium culmorum* v uměle inokulovaném osivu. Naopak u původního osiva byly zaznamenány rody jiných patogenů.
- Vzcházivost pšenice jarní, a jejích testovaných odrůd v nádobovém pokusu potvrdila nižší vzcházivost rostlin v zemině z provozního pozemku, oproti rostlinám pěstovaným v zahradnickém substrátu. Vliv inokulace osiva *Fusarium culmorum* na vzcházivost rostlin nebyl potvrzen.
- U polního pokusu na vzcházivost rostlin nemělo žádný vliv pěstování rostlin na konvenční či ekologické ploše. Na obou stanovištích porosty všech odrůd pěstovaných z inokulovaného osiva byly vyrovnanější, zapojenější a tmavě zeleného zbarvení. Naopak porosty pěstované z původního osiva nebyly tak vyrovnané, zapojené a pletiva rostlin byla spíše světle zeleného zbarvení. Proto lze tvrdit, že *Fusarium culmorum* v počátečním vývoji rostlin v našem pokusu podporovalo vzcházivost a počáteční růst pšenice jarní.
- Po provedení detekce *Fusarium culmorum* v pletivech pěstovaných rostlin metodou PCR byl prokázán výskyt této houby pouze u jedné odrůdy. Toto zjištění bylo potvrzeno i po hodnocení klasů symptomatickou metodou. V ostatních případech nebyla prokázána přítomnost *Fusarium culmorum* v pletivech ostatních sledovaných rostlin.
- Po vyhodnocení pokusů lze konstatovat, že v případě povrchové kontaminace patogenem nemusí dojít k projevení choroby na rostlině. Z tohoto pohledu je možné uvažovat o změně metodiky hodnocení výskytu *Fusarium* spp. na/v osivu. To se provádí metodou vlhké komůrky bez povrchové desinfekce zrn. Touto metodou není možné rozlišit infekci od povrchové kontaminace zrn.
- Stanovená hypotéza není potvrzena, neboť inokulace osiva *Fusarium culmorum* neměla negativní vliv na klíčivost, vzcházivost a další vývoj porostu.
- Pro získání skutečně věrohodných výsledků by bylo potřeba opakovat především polní pokusy.

## 8 Seznam literatury

Ackermann, P., Baranyk, P., Bubeník, J., Cagaš, B., Čech, P., Dědek, J., Douda, O., Harašta, P., Hausvater, E., Havel, J., Honěk, A., Huňády, I., Chochola, J., Janků, J., Jursík, M., Kasal, P., Kazda, J., Klašková, L., Klem, K., Kocourek, F., Konečný, I., Kůdela, V., Máchač, R., Matušinsky, P., Málek, B., Mikulka, J., Nedělník, J., Ondráčková, E., Ondřej, M., Petrucha, J., Plachká, E., Poslušná, J., Rotrekl, J., Řehák, V., Seidenglanz, M., Spáčilová, V., Spitzer, T., Stará, J., Šmahel, P., Šmirous, P., Tvarůžek, L., Vaculík, A., Veverka, K., Zapletal, M. 2013. Metodická příručka integrované ochrany rostlin proti chorobám, škůdcům a plevelům – Polní plodiny. Česká společnost rostlinolékařská. Praha. s. 360. ISBN 978-80-02-02480-4

Baker, K. F. 1972. Seed pathology. Academic Press. New York. pp. 317-416

Benada, J., Flašarová, M., Krofta, S., Kubík, K. 2001. Metodika pěstování jarní obilnin: Ječmen jarní, oves, pšenice jarní. Výzkumný ústav zemědělský Kroměříž. s. 143. ISBN 80-902545-4-3

Bláha, L., Stehno, Z., Konvalina, P., Capouchová, I., Janovská, D., Kaš, M., Lacinová, Š. 2013. Vliv provenience osiva na vlastnosti semen následující generace jarní pšenice. Úroda 60 (12). 12-14. ISSN ISSN 0139-6013

Bottalico, A., Perrone G. 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. Europe Journal of Plant pathology, 108. 611 - 624

Desjardins, A. E. 2006. *Fusarium* Mycotoxins, Chemistry, Genetics, and Biology. The American Phytopathological Society. Minnesota. pp. 260

Doohan, F. M., Brennan, J., Cooke, B. M. 2003. Influence of climatic factors on *Fusarium* species pathogenic to cereals. European Journal of Plant Pathology. 109. 755 – 768

Dvorský, J., Urban, J. 2011. Základy ekologického zemědělství. ÚKZÚZ. Praha. s.109. ISBN 978-80-7401-051-4

Finch-Savage, W.E. 2004. 'The use of population-based threshold models to describe and predict the effects of seedbed environment on germination and seedling emergence of crops.', in *Handbook of Seed physiology: Applications to Agriculture*, 51- 96, Editors: Benech-Arnold, R.L. and Sánchez, R.A., New York: Haworth Press

Gilber, J., Tekauz, A., Woods, S. M. 1997. Effect of storage on viability of fusarium head blight – affected spring wheat seed. *Plant Dis.* 81. 159 – 162.

Girsch, L., Weinhappel, M. 2004. Specific seed health standards of organic cereal seed. *Proceedings of the First World Conference on Organic Seed.* s. 188. ISBN 3-934055-38-9

Groot, S.P.C., Oosterveld, P., Wolf, J., Jalink, H., Langerak, J., Bulk, R. 2004. The role of ISTA and seed science in assuring organic farmers with high quality seeds. *Proceedings of the First World Conference on Organic Seed.* s. 188. ISBN 3-934055-38-9

Halberg, N. 2012. Assessment of the environmental sustainability of organic farming: Deficiencies, indicators and the major challenges. *Canadian Journal of Plant science.* 92(6). 979-980

Hampton, J.G., Tekrony, D. M. Et. 1995. *Handbook of Vigour Test Methods.* 3rd Edition. 1179.

Honsová H., Capouchová I., Chaloupský R., Stehno Z., Konvalina P., 2013a. Biologické moření při ekologickém pěstování jarní pšenice a ječmene, *Úroda* 60 (3). 31-34, ISSN 0139-6013

Honsová, H., Capouchová, I, Chaloupský, R., Konvalina, P., Stehno, Z., 2013b. Kvalita osiv ovlivňuje jeho původ daný podmínkami pěstování. *Úroda* 60 (7). 19-22, ISSN 0139-6013

Honsová, H., Capouchová, I., Chaloupský, R., Stehno, Z., Konvalina, P., 2013c. Posuzování kvality osiva vybraných druhů a odrůd jarních obilnin. *Úroda* 60 (12). 12-14. ISSN 0139-6013

- Hosnedl, V., Honsová, H. 2007. Kvalita osiva pšenice v ekologickém zemědělství. Ekologické zemědělství 2007 (sborník z konference). Praha 6 – Suchdol. s. 214. ISBN 978-80-213-1611-9
- Horáková, V., Dvořáková, O., Mazlík, T. 2012. Seznam doporučených odrůd: pšenice ozimá, pšenice jarní, ječmen jarní, ječmen ozimý, žito ozimé, tritikale ozimé, oves hluchý pluchatý, hrách polní, Přehled odrůd: oves setý bezpluchý, tritikale jarní, lupina bílá, lupina úzkolistá. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Brno. s. 203. ISBN 978-80-7401-059-0
- Houba, M., Hosnedl, V. 2002. Osivo a sadba, praktické semenářství. Nakladatelství Ing. Martin Sedláček. Praha. s. 186. ISBN 80 – 902413-6-0
- Hýsek, J. Vah, M., Javůrek, M. 2008. Biologická ochrana obilnin proti houbovým patogenům – metodika pro praxi. Výzkumný ústav rostlinné výroby. Praha. ISBN 978-80-87011-56-0
- Chrpová, J., Šíp V., Sýkorová, S., Sychrová, E. 2007. Možnosti snížení rizika napadení obilovin klasovými fuzariózami. Výzkumný ústav rostlinné výroby. v.v.i. Praha. s. 18. ISBN 978-80-87011-1
- Johansson, P. M., Johnsson, L. , Gerhardson, B. 2003. Suppression of wheat-seedling diseases caused by *Fusarium culmorum* and *Microdochium nivale* using bacterial seed treatment. *Plant Pathology*. Vol. 52. (2) 219-227
- Lekeš, J. 1988. Technologie pěstování a agrobiologická kontrola porostů obilnin. Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství. Praha. s. 70. ISBN 0231-9470
- Leslie, J. F., Summerell, B. A. 2006. The *Fusarium* laboratory manual, Ames, pp. 388
- Limonard T. 1966. A modified blotter test for seed health. *European Journal of Plant Pathology*., pp. 319-321.
- Konvalina P., Capouchová I., Janovská D., Prokinová E., Honsová H., Káš M., Moudrý J. 2013. Produkce osiv obilnin v ekologickém zemědělství (certifikovaná metodika). Praha. s. 60. ISBN 978-80-7427-146-5

Kůdela, V., Kocourek, F., Bárnét, M., Ackermann, P., Benada, J., Beránek, J., Dědič, P., Cagaš, B., Hausvater, E., Holý, K., Koněčný, I., Nedělník, J., Ondráčková, E., Ondřej, M., Pultar, O., Rasocha, V., Rod, J., Rotrekl, J., Seidenglanz, M., Pokorný, R., Polák, J., Svoboda, P., Šafránková, I., Šmirous, P., Štolcová, J., Váňová, M., Veverka, K., Vacke, J. 2012. České a anglické názvy chorob a škůdců rostlin. Profi Press. Praha. s.272. ISBN 978-80-905080-4-0

Majumder, D., Rajesh, T., Suting, E. G., Debbarma, A. 2013. Detection of seed borne pathogens in wheat: recent trends. Australian Journal of Crop Science 7 (4). 500 – 507, ISBN 1835-2707

Mesterházy, Á. 1995. Types and components of resistance against *Fusarium* head blight. Plant Breeding. 114. 377 - 386

Mesterházy, A. 2003. Breeding wheat for *Fusarium* head blight resistance in Europe. In: *Fusarium* Head Blight of Wheat and Barley. Ed. Leonard K.J., Bushnell W.R., The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA. pp. 312

Moudrý, J. a Konvalina, P. 2008. Pěstování pšenice seté v ekologickém zemědělství. Praha. s. 26. ISBN 978-80-73941314

Moudrý, J., Konvalina, P., Šrámek, J. 2007. Poradenské listy pro ekologické zemědělce – Pšenice setá. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Nedělník, J., Moravcová, H., Hajšlová, J., Lancová, K., Váňová, M., Salava, J. 2007. *Fusarium* spp. in wheat grain in the Czech Republic analysed by PCR method. Plant Protect. Sci. (43). 135 - 137

Parry, D. W., Jenkinson, P., Mc. Leon, L. 1995. *Fusarium* ear blight (scab) in small-grain cereals – a review. Plant pathology (44). 207 - 238

Pazderů, K., Hosnedl, V. 2011. Vitalita jako základní informace o kvalitě osiva. In: Pazderů, K. (Ed.), Osivo a sadba (X. odborný a vědecký seminář). Praha, pp. 44-48. ISBN 978-80-213-2153-3

- Prokinová E. 2003. Houbové choroby přenosné osivem. Úroda (3). 8-9
- Prokinová E. 2013a. Poznámky ke zdravotnímu stavu osiv. Rostlinolékař (6). 34-37
- Prokinová E. 2013b. Nebezpečné Fusariózy obilnin. Úroda 60 (4). 57-60. ISSN 0139-6013
- Prokinová, E., Capouchová, I., Kostecká, M. 2011. Význam fuzariózy klasů ozimé pšenice pro osivo. Osivo a sadba (X. odborný a vědecký seminář). Praha, pp. 44-48. ISBN 978-80-213-2153-3
- Prugar, J., Bjelková, M. 2008. Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s. s. 327
- Samsonová, P.(eds.). 2012. Produkce osiv v ekologickém zemědělství. Bioinstitut. Olomouc. s. 128. ISBN 978-80-903583-0-0
- Šarapatka, B. a Urban, J. 2006. Ekologické zemědělství v praxi. PRO-BIO Svaz ekologických zemědělců. Šumperk. s. 502. ISBN 978-80-903583-0-0
- Schilling, A.G., Moller, E.M. and Geiger, H.H. 1996 Polymerase chain reaction-based assays for species-specific detection of *Fusarium* culmorum, *F. graminearum*, and *F. avenaceum*. Phytopathology (86). 515–522
- Širučková, I., Kroutil, P. 2007. Fusariózy na obilninách (*Fusarium* spp.). Ministerstvo zemědělství se spoluprací se Státní rostlinolékařskou správou. Praha
- Timmermans, B. G. H., Osman, A. M., Van der Burgt, G. H. M. 2009. Differences between spring wheat cultivars in tolerance to *Fusarium* seedling blight under organic field conditions. Eur J Plant Pathol. 125. 377 – 386
- Urban, J. 2011. Bioosiva jsou šancí pro producenty. Ekologické zemědělství. Zemědělec (7)



Velema, J. 2004. Challenges and opportunities in organic seed production. Proceedings of the First World Conference on Organic Seed. s. 188. ISBN 3-934055-38-9

**Internetové zdroje:**

Cullison, W. M. *Fusarium* soil microbiology. [online] 1999. [12.11.2013]. Dostupné z <[http://filebox.vt.edu/users/chagedor/biol\\_4684/Microbes/fusarium.html](http://filebox.vt.edu/users/chagedor/biol_4684/Microbes/fusarium.html)>.

Trail, F. *Fusarium* Comparative Database. [online] 2007. [12.11.2013]. Dostupné z <[http://www.broadinstitute.org/annotation/genome/fusarium\\_group/MultiHome.html](http://www.broadinstitute.org/annotation/genome/fusarium_group/MultiHome.html)>.

Capouchová, I., Konvalina, P., Stehno, Z., Prokinová, E., Janovská, D., Honsová, H., Bláha, L., Kás M. Organic Cereal Seed Quality and Production, Organic Farming and Food Production. [online]. 2012. [17.3.2014]. Dostupné z <<http://www.intechopen.com/books/organic-farming-and-food-production/organic-cereal-seed-quality-and-production>>.

Zachariášová, M., Hajšlová, J. Fusariové mykotoxiny v pšenici, Pšenice od A do Z, Bayer CropScience. [online]. 2009. [15.2.2014]. Dostupné z <<http://www.bayercropscience.cz/dokumenty/prospekty/prospekt-ozima-psenice-od-a-do-z.aspx>>.

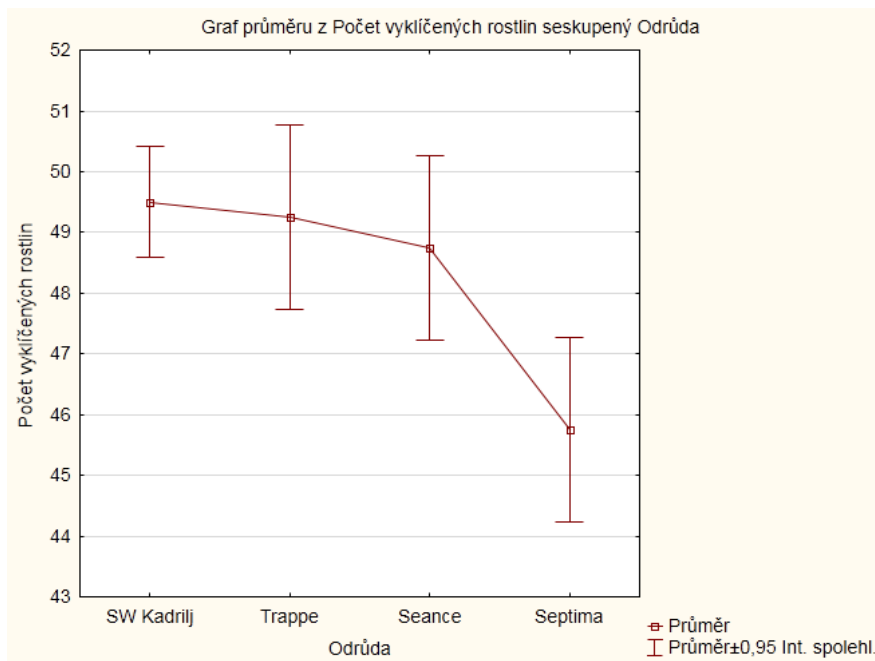
Chloupek, O. Kvalita osiva. Šlechtění a semenářství. [online]. 2013. [10.3.2014]. <[http://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_projekty2/vseo/stranka.php?kod=1507](http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=1507) >.

## 9 Seznam použitých zkratek a symbolů

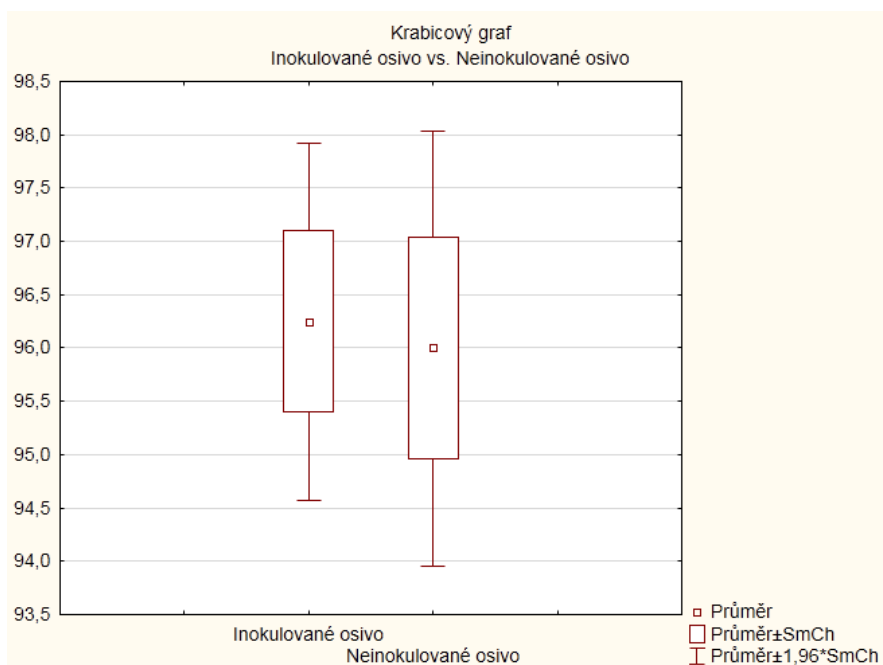
- Bp pár bazí
- CTAB cetyl trimetylamonium bromid
- CH : I chloroform : isoamylalkohol
- dH<sub>2</sub>O destilovaná voda
- ddH<sub>2</sub>O re-destilovaná voda
- DNA kyselina deoxyribonukleová
- d-NTP deoxynukleotid – 5'- trifosfát
- IAA isoamylalkohol
- ME 2 – merkaptoethanol
- MgCl<sub>2</sub> chlorid hořečnatý
- PCR polymerázová řetězová reakce
- Taq *Thermus aquaticus*
- TBE pufr tris-brátový pufr s EDTA
- TE pufr TRIS/EDTA pufr
- U enzymová jednotka
- UV ultrafialové záření

# 10 Samostatné přílohy

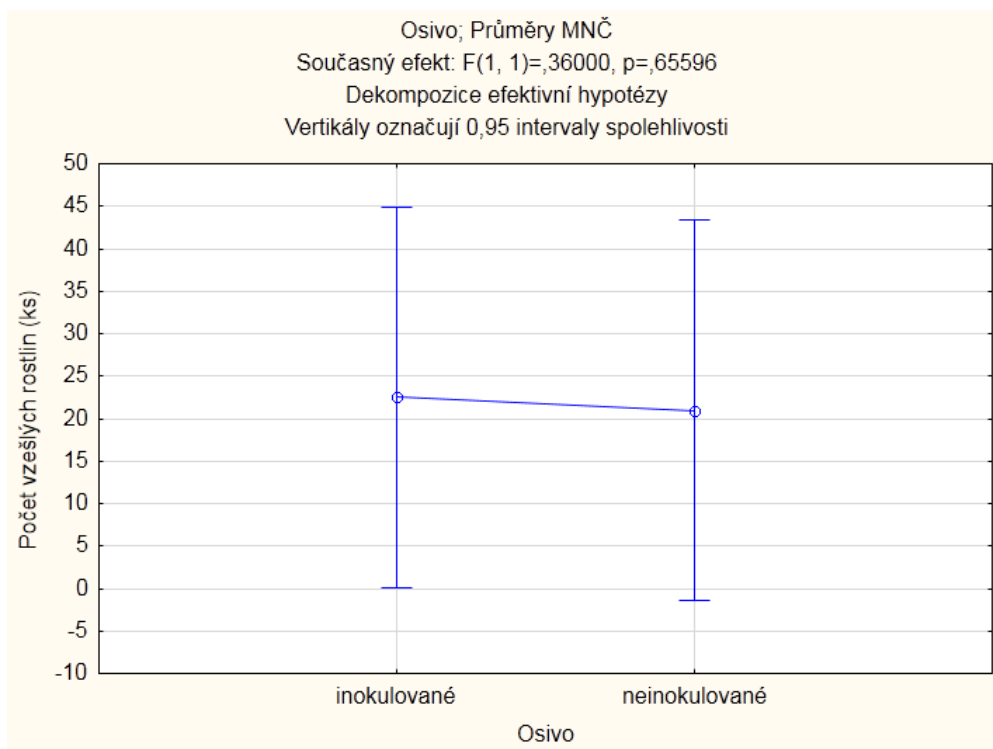
## 10.1 Statistické výsledky



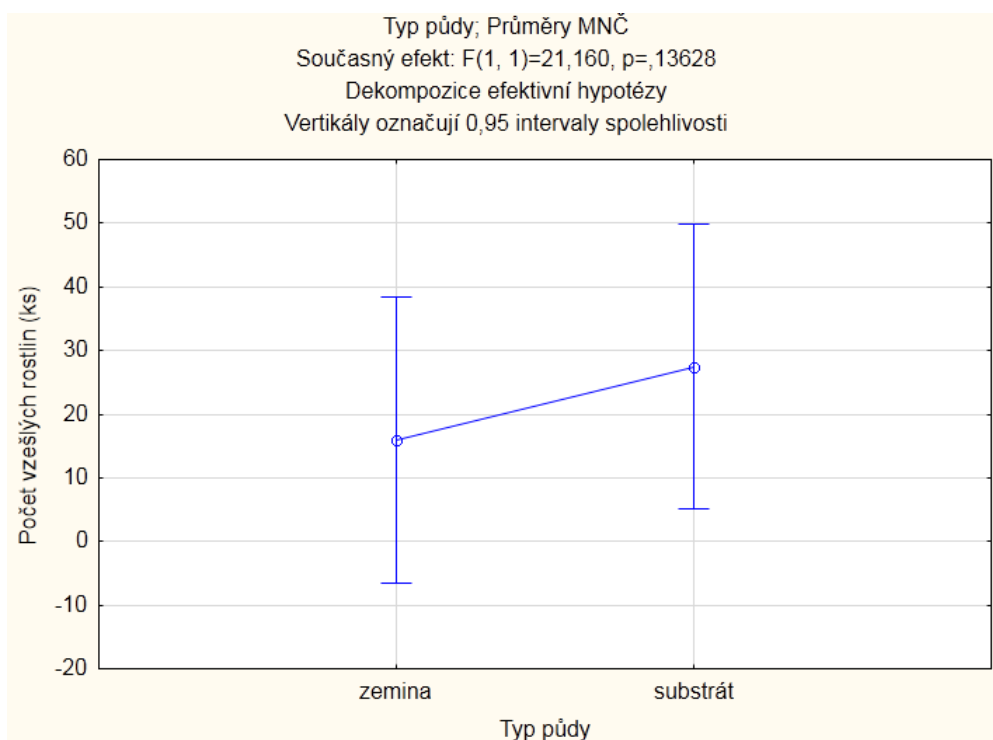
Graf č. 20 Statistické vyhodnocené průměry vyklíčených rostlin ve vlhké komůrce



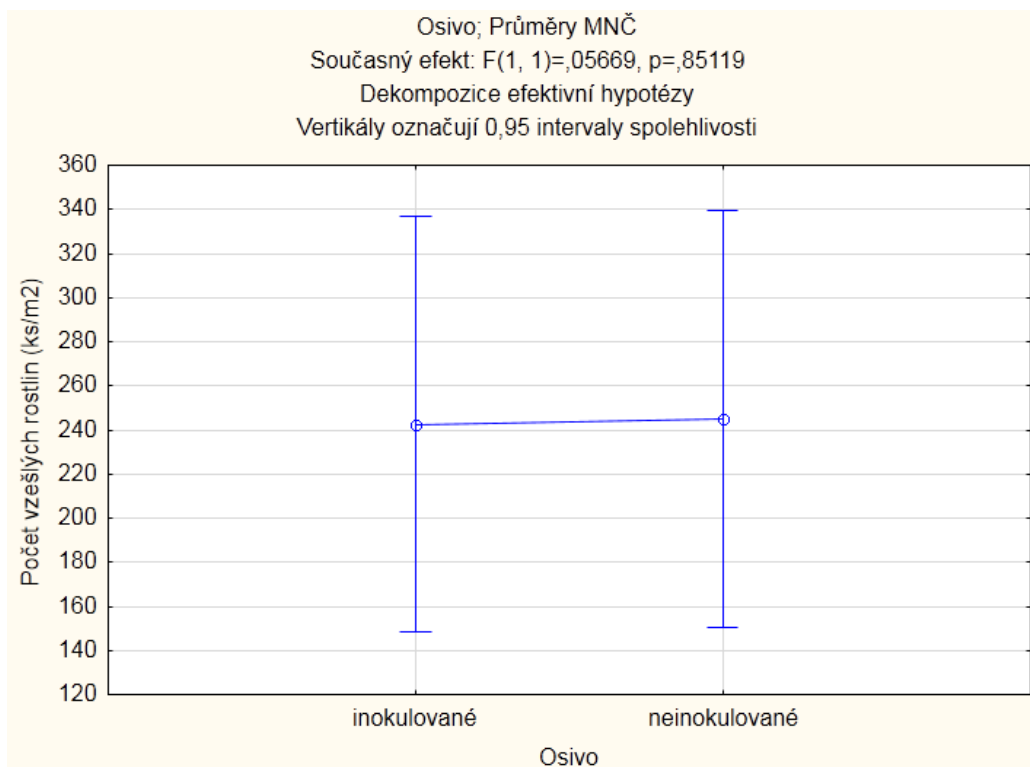
Graf č. 21 Hodnocení rozdílů mezi vyklíčenými rostlinami z osiva inokulovaného a původního – bez inokulace



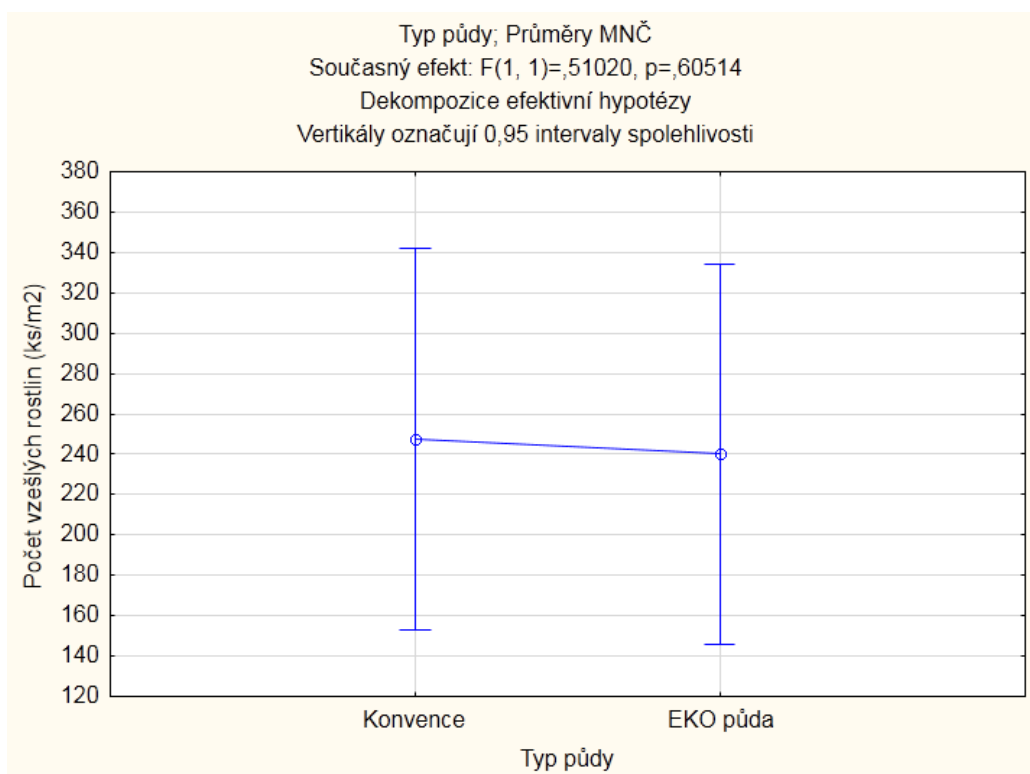
Graf č. 22 Vyhodnocení vzcházivosti odrůdy Trappe v nádobovém pokusu z rozdílného osiva



Graf č. 23 Vyhodnocení vzcházivosti odrůdy Trappe v nádobovém pokusu z různých půd



Graf č. 24 Vyhodnocení vzcházivosti odrůdy Trappe v polním pokusuz rozdílného osiva



Graf č. 25 Vyhodnocení vzcházivosti odrůdy Trappe v polním pokusu z různých půd

## 10.2 Fotografie

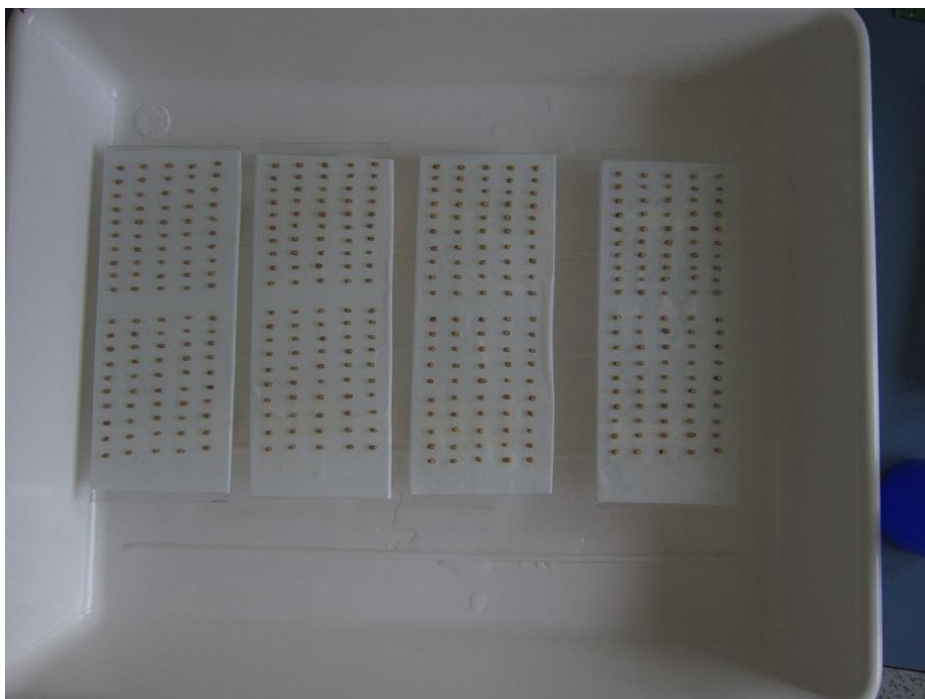


Foto č. 6 zakládání klíčivosti, foto Markéta Venclová



Foto č. 7 Detailní pohled na obilky, při zakládání klíčivosti, foto Markéta Venclová

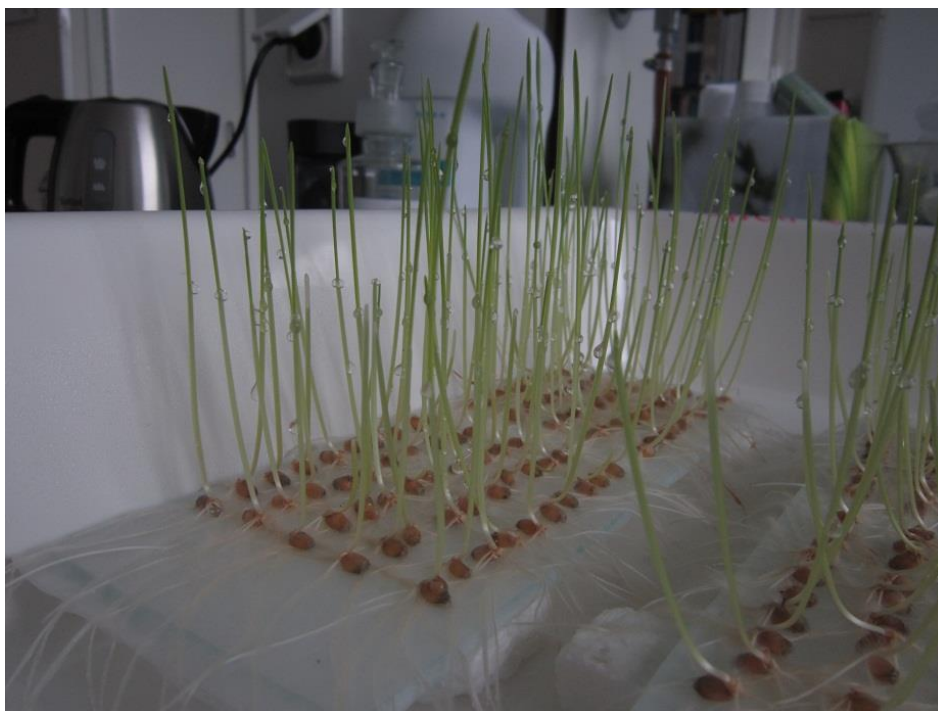
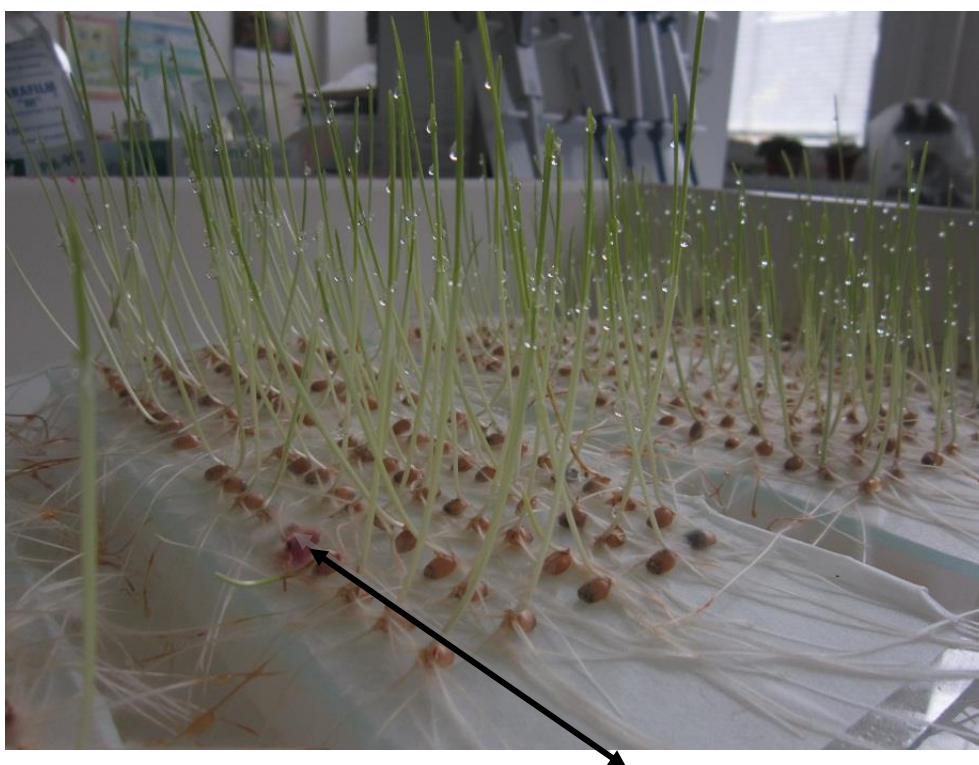


Foto č. 8 Klíčivost osiva, foto Markéta Venclová



Fotoč.9 Klíčivost osiva s obilkou napadenou *Fusarium* spp.,fotoMarkéta Venclová



Foto č. 10 Detailní pohled na obilku napadenou *Fusarium* spp.,foto Markéta Venclová



Foto č. 11 Izolace obilek pšenice jarní, odrůdy Trappe na živné medium, foto Markéta Venclová



Foto č. 12 Počítání kolonií izolovaných obilek po 7 dnech, foto Markéta Venclová





Foto č. 13 Izolované obilky pšenice jarní, odrůdy Seance na živném medium, foto Markéta Venclová

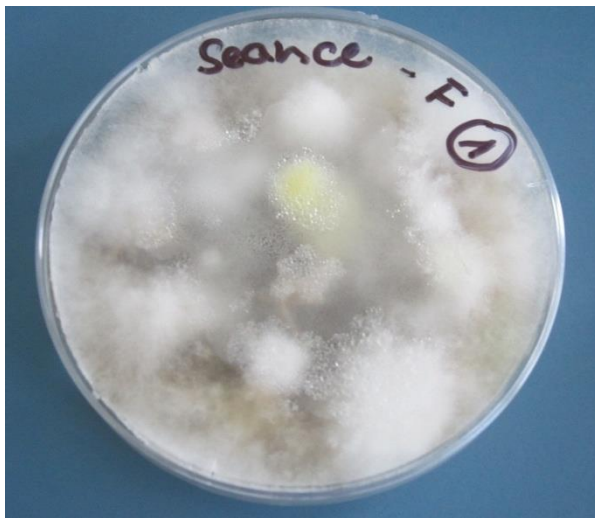


Foto č. 14 Počítání kolonií izolovaných obilek po 7 dnech, foto Markéta Venclová

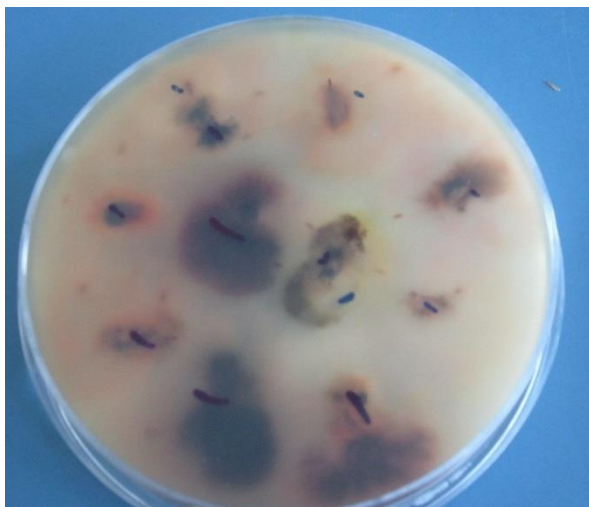


Foto č. 15 Počítání kolonií izolovaných obilek po 7 dnech (značka fixou značí kolonii), foto Markéta Venclová



Foto č. 16 Vzcházivost pšenice jarní v nádobovém pokusu, 14 dní od založení, foto Markéta Venclová



Foto č. 17 Vzcházivost pšenice jarní v nádobovém pokusu, 3 týdny od založení (termín druhého počítání vzešlých rostlin), foto Markéta Venclová



Foto č. 18 Vzcházivost pšenice jarní v problémové půdě ( 3 týdny od založení pokusu),  
foto Markéta Venclová



Foto č. 19 Vzcházivost pšenice jarní v zahradnické substrátu ( 3 týdny od založení  
pokusu), foto Markéta Venclová



Foto č. 20 Vzcházivost pšenice jarní v nádobovém pokusu, ( 3 týdny od založení), foto Markéta Venclová



Foto č. 21 Vzcházivost pšenice jarní v nádobovém pokusu, ( měsíc od založení), foto Markéta Venclová



Foto č. 22 Vzcházivost pšenice jarní v nádobovém pokusu, ( týden před ukončením pokusu), foto Markéta Venclová



Foto č. 23 Vzcházivost pšenice jarní v nádobovém pokusu, ( ukončení pokusu, 29.5.2013), foto Markéta Venclová



Foto č. 24 Vzcházivost pšenice jarní, odrůdy Trappe - KO, v problematické zemině, foto Markéta Venclová



Foto č. 25 Vzcházivost pšenice jarní, odrůdy Trappe - F, v problematické zemině, foto Markéta Venclová



Foto č. 26 Porovnání rostlin pěstovaných v problematické zemině, v roce 2013, foto Markéta Venclová



Foto č. 27 Vzcházivost pšenice jarní, odrůdy Trappe - KO, v zahradnickém substrátu, foto Markéta Venclová



Foto č. 28 Vzcházivost pšenice jarní, odrůdy Trappe - F, v zahradnickém substrátu, foto Markéta Venclová



Foto č. 29 Porovnání rostlin pěstovaných v zahradnickém substrátu, v roce 2013, foto Markéta Venclová



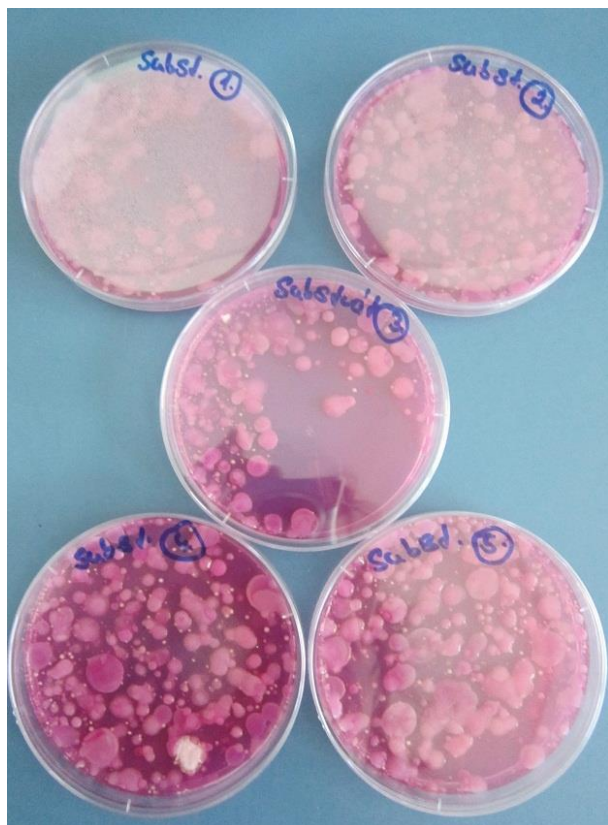


Foto č. 30 Počítání kolonií izolovaného zahradnického substrátu po 3 dnech od založení, foto Markéta Venclová

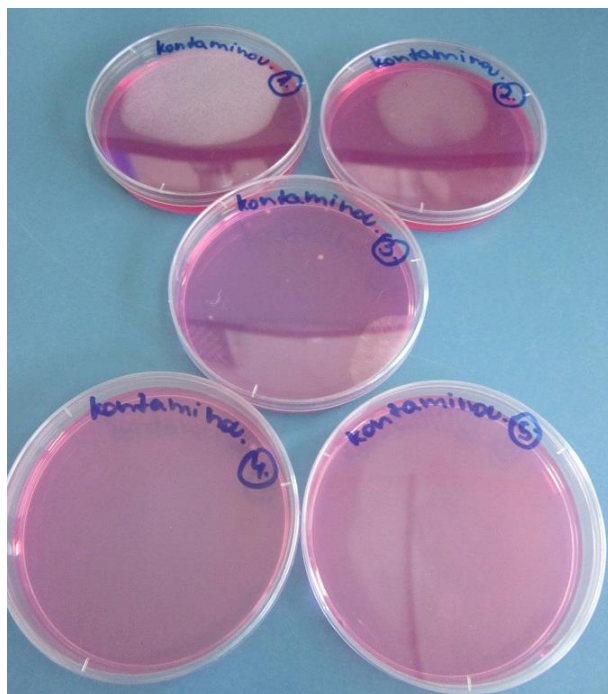


Foto č. 31 Počítání kolonií izolovaného problematické zeminy po 3 dnech od založení, foto Markéta Venclová

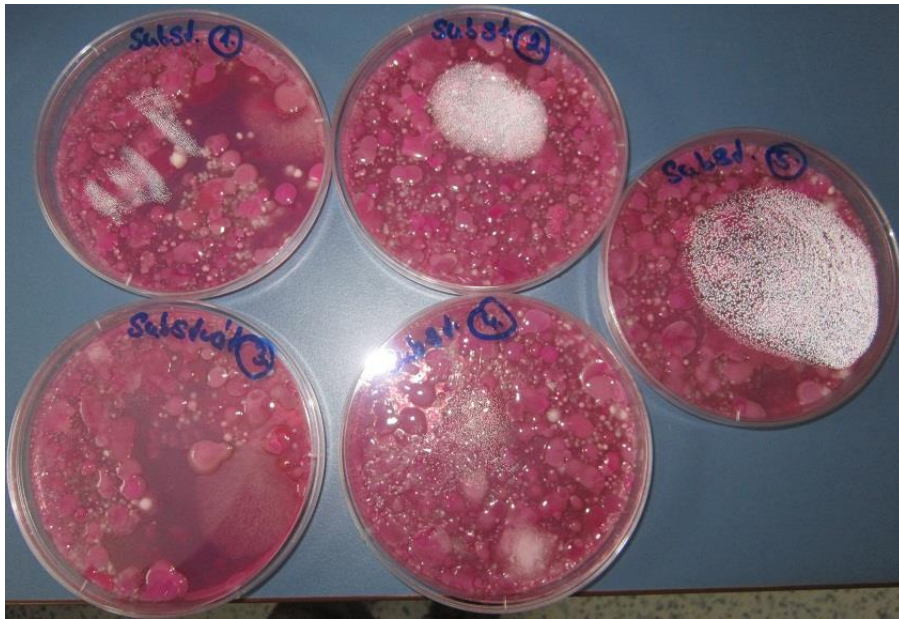


Foto č. 32 Počítání kolonií izolovaného zahradnického substrátu po týdnu od založení, foto Markéta Venclová

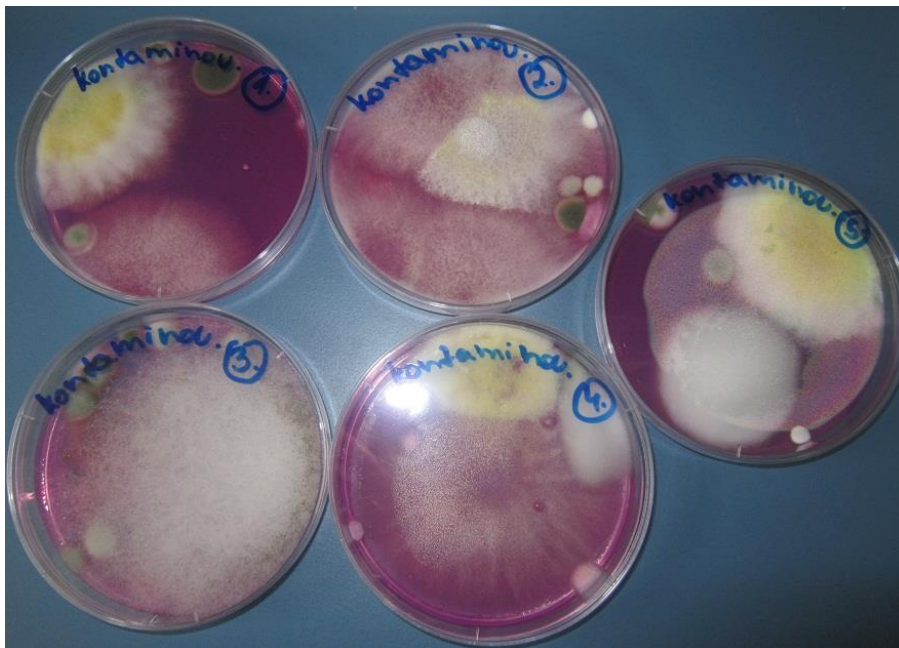


Foto č. 33 Počítání kolonií izolovaného problematické zeminy po týdnu od založení, foto Markéta Venclová



Foto č. 34 Polní pokus Praha – Uhříněves, měsíc a 5 dnů od zasetí, foto Markéta Venclová



Foto č. 35 Polní pokus Praha – Uhříněves, měsíc a 5 dnů od zasetí, foto Markéta Venclová



Foto č. 36 Poškozené srdíčko jarní pšenice od Bzunky ječné, fotoMarkéta Venclová



Foto č. 37 Porost pšenice jarní 26.6.2013 na ekologické ploše (Praha – Uhřetěves) – odběr rostlin pro PCR, foto Markéta Venclová



Foto č. 38 Porost pšenice jarní 26.6.2013 na konvenční ploše (Praha – Uhřetěves) – odběr rostlin pro PCR, foto Markéta Venclová



Foto č. 39 Porost pšenice jarní 22.8.2013 na ekologické ploše (Praha – Uhřetěves) – odběr klasů pro hodnocení k laboratorních podmínkách, foto Markéta Venclová



Foto č. 40 Porost pšenice jarní 22.8.2013 na konvenční ploše (Praha – Uhřetěves) – odběr klasů pro hodnocení k laboratorních podmínkách, foto Markéta Venclová



Foto č. 41 Klas pšenice jarní s příznakem *Fusarium* spp., odrůda Trappe – F, pěstované na ekologické ploše, foto Markéta Venclová