

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, přírodních a potravinových zdrojů

Katedra ochrany rostlin



**Hodnocení rezistence k fuzarióze klasu pluchaté pšenice
(špalda) v porovnání s pšenicí setou**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Markéta Cirusová

Kvalita a zpracování zemědělských produktů

Vedoucí práce: prof. Ing. Pavel Ryšánek, CSc.

Konzultant: Ing. Jana Chrpová, CSc.

© 2019 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že diplomovou práci „Hodnocení rezistence k fuzarióze klasu pluchaté pšenice (špalda) v porovnání s pšenicí setou“ jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne

Markéta Cirusová

Poděkování

Ráda bych poděkovala Ing. Janě Chrpové, CSc. a ostatním členům týmu Genetika a šlechtitelské metody ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby, v. v. i. a dále vedoucímu práce panu prof. Ing. Pavlu Ryšánkovi, CSc. za pomoc při zpracování diplomové práce.

Souhrn

Podle získaných dat lze říci, že pšenice špalda (*Triticum spelta*) je odolnější vůči napadení houbami rodu *Fusarium* a akumulaci mykotoxinů v zrně než pšenice setá (*Triticum aestivum*), nelze však říci, že je pšenice špalda naprosto bezpečná. Mezi odrůdami pšenice špaldy byly významné rozdíly v akumulaci DON v zrně. Např. průměrný obsah DON v zrně odrůdy Ebners Rotkorn byl 3,1 mg/kg a odrůda Schnottwiler Weisskorn 35 dosahovala průměrného obsahu DON v zrně 95,0 mg/kg. I mezi odrůdami pšenice seté se vyskytovaly velmi dobré odrůdy jako je Bakfis (mírně rezistentní kontrola) a Viky.

Šíření infekce a akumulace mykotoxinů je ovlivněna mnoha faktory. Mezi nejvýznamnější patří průběh počasí v daném roce, mechanismy pasivní rezistence, odrůda a u pšenice špaldy pluchy.

Pokusy proběhly v letech 2016 – 2018. V uskutečněné studii se efekt ročníku projevil i přes použití závlahy. Nejnižší průměrný obsah DON byl zjištěn ve vzorcích z roku 2017, který byl nepříznivý pro rozvoj infekce (teplé a suché počasí). Nejlepší podmínky pro rozvoj infekce byly v roce 2018, kdy se v zrně pšenice seté i pšenice špaldy vytvořilo největší množství mykotoxinů. Rok 2018 byl teplejší a bylo více srážek v období květen až červenec.

Významný vliv na obsah DON v zrně mají pluchy, které se odstraňují až před zpracováním. Analýzou bylo zjištěno, že v plevách pšenice špaldy se nacházelo přibližně trojnásobné množství DON (82,9 mg/kg) než v zrně (27,1 mg/kg). Plevy chrání zrně před prorůstáním mycelia do zrna.

Dobrá ochranná vliv mohou mít i mechanismy pasivní rezistence, jako jsou např. výška rostliny a hustota klasu. U rostlin s delším stéblem dochází ke snížení vlhkosti v klasu a vytvářejí se tak méně příznivé podmínky pro rozvoj patogenu i k akumulaci mykotoxinů.

Klíčová slova: pšenice špalda, DON, mykotoxiny, ELISA, *Fusarium*

Summary

According to the data we can say that spelt (*Triticum spelta*) is more resistant to attack by *Fusarium fungi* and accumulation of mycotoxins in grain than common wheat (*Triticum aestivum*), but spelt is not absolutely safe. Among the spelt varieties, there were significant differences in DON accumulation in grain. The average DON content of the Ebners Rotkorn grains was 3.1 mg/kg and the Schnottwiler Weisskorn 35 variety had an average DON content of 95.0 mg/kg. Very good varieties, such as Bakfis (slightly resistant control) and Viky, were also found among varieties of common wheat.

The spreading of infection and mycotoxin accumulation is influenced by many factors. The most important is weather in the year, the mechanism of passive resistance, the variety or husk for spelt.

The experiments took place in the years 2016 – 2018. The effect of the year was reflected in the study. Despite the use of irrigation. The lowest average DON content was found in samples from 2017, which was unfavorable for the development of infection (warm and dry weather). The most favorable conditions for the development of infection were in 2018, when the largest amount of mycotoxins was produced in both grain and spelt. 2018 was warmer and there was more rainfall between May and July.

Significant influence on the DON content in the grain is caused by husk, which are removed before processing. Analysis found about 3 times the amount of DON (82.9 mg/kg) was found in husks than in grain (27.1 mg/kg). The husks protect the grain from mycelium penetration into the grain.

Mechanisms of passive resistance, such as plant height and ear density, may also have a good protective effect. In plants with longer stalk, the moisture in the ear is reduced, creating less favorable conditions for pathogen development and mycotoxin accumulation.

Keywords: Spelted, DON, mycotoxins, Elisa, *Fusarium*

Obsah

1.	Úvod.....	1
2.	Hypotéza a cíl práce.....	2
3.	Literární rešerše	3
3.1.	Pšenice špalda (<i>Triticum spelta</i>)	3
3.2.	Pšenice setá (<i>Triticum aestivum</i>).....	4
3.3.	Mykotoxiny	5
3.3.1.	Charakteristika mykotoxinů.....	5
3.3.2.	Typy mykotoxinů.....	6
3.3.3.	Vliv mykotoxinů na technologické vlastnosti obilovin	8
3.3.4.	Vliv mykotoxinů na hospodářská zvířata	8
3.4.	Fuzariózy obilnin	9
3.4.1.	Úvod.....	9
3.4.2.	Původci klasových fuzarióz a jimi produkované mykotoxiny.....	9
3.4.3.	Stanovené limity	10
3.5.	Faktory ovlivňující obsah mykotoxinů v obilovinách	11
3.5.1.	Úvod.....	11
3.5.2.	Klimatické podmínky	12
3.5.3.	Rezistence odrůd.....	13
3.5.4.	Agrotechnická opatření.....	13
3.5.5.	Aplikace fungicidů.....	14
3.6.	Detekce mykotoxinů	15
3.6.1.	ELISA	15
3.6.2.	Kapalinová chromatografie.....	16
3.6.3.	Diagnostický klíčící test	17
4.	Materiál a metodika	18
4.1.	Rostlinný materiál	18
4.2.	Pomůcky.....	19
4.3.	Chemikálie	19
4.4.	Přístroje	19
4.5.	Příprava vzorků	23
5.	Výsledky	27
6.	Diskuse.....	42

7. Závěr	44
8. Zdroje.....	45

1. Úvod

Pšenice špalda je kulturní pluchatá pšenice. Charakteristickými znaky pšenice špaldy jsou lámavost klasového větene a uzavření obilek v pluchách i v době zralosti. Je nenáročná k podmínkám pěstování (dobře snáší vlhké a chladné podmínky). Má mohutnou kořenovou soustavu, která umožňuje získat živiny z hlubších vrstev půdy. Je nenáročná na teplotu. Je vhodná pro pěstování v méně příznivých oblastech pro pšenici setou tam, kde pšenice setá ztrácí efektivnost.

Mikroskopické vláknité houby rodu *Fusarium* se nejčastěji vyskytují u pšenice, ječmene, ovsa a kukuřice. Důsledkem napadení zrna je snížení jeho kvality, dochází k výnosovým ztrátám a tvorbě sekundárních metabolitů vláknitých hub (mykotoxinů), které negativně ovlivňují člověka i hospodářská zvířata. Napadené zrna není vhodné pro potravinářské zpracování ani jako krmivo.

V ČR je každoročně sledováno kolem 15 druhů rodu *Fusarium* jako původců klasových fuzarióz. Na pšenici a ječmeni se nejčastěji vyskytují *F. graminearum* a *F. culmorum*, které produkují např. deoxynivalenol (DON), nivelanol (NIV), zearalenon (ZEA), T – a HT – 2 toxiny.

Šíření infekce a akumulace mykotoxinů v zrna je ovlivněna mnoha faktory. Rozhodující je průběh počasí v daném roce (teplota a srážky), vliv odrůdy, pasivní rezistence (výška rostliny, hustota klasu), agrotechnická opatření, aplikace fungicidů a u pšenice špaldy mají významný vliv plevy, které chrání zrna před napadením.

2. Hypotéza a cíl práce

Hypotéza:

U pšenice špaldy (*Triticum spelta*) je menší riziko z hlediska kontaminace zrna mykotoxiny produkovánými patogeny při napadení houbami rodu *Fusarium* než u pšenice seté.

Cíl práce:

Vyhodnocení rezistence 80 odrůd pšenice špaldy (symptomatické hodnocení, stanovení obsahu DON v zrně) a porovnání výsledků s hodnocením souboru 39 odrůd pšenice seté.

3. Literární rešerše

3.1. Pšenice špalda (*Triticum spelta*)

Pšenice špalda je kulturní pluchatá pšenice. Charakteristickými znaky pšenice špaldy jsou lámavost klasového větene a uzavření obilek v pluchách i v době zralosti. Je nenáročná k podmínkám pěstování (dobře snáší vlhké a chladné podmínky). Má mohutnou kořenovou soustavu, která umožňuje získat živiny z hlubších vrstev půdy. Je nenáročná na teplotu. Má dobrou mrazuvzdornost a je odolná i proti vyležení při vysoké vrstvě sněhu. Je vhodná pro pěstování v méně příznivých oblastech pro pšenici setou tam, kde pšenice setá ztrácí efektivnost. Hodí se do horší obilnářské, bramborářské, podhorské a horské oblasti. Má užší, více chloupkaté listy než pšenice setá. Stéblo má duté, tenkostěnné a poměrně dlouhé. Oproti pšenici seté je špalda náchylnější k poléhání, protože stéblo je poměrně dlouhé (110 – 150 cm) (Konvalina 2013). U špaldy se nesklízí zrn, ale celé klásky, které obsahují jedno nebo více zrn. Špaldu napadají stejné patogeny jako pšenici setou, ale špalda je proti napadení patogeny celkově odolnější (Riesen et al. 1986; Solarska et al. 2012; Konvalina 2013; Capouchová et al. 2014).

Díky většímu podílu aleuronové vrstvy obsahuje špalda v průměru 16 – 17 % bílkovin, což je mnohem více v porovnání s pšenicí setou (12 – 14 %). V aminokyselinovém složení mezi nimi nejsou velké rozdíly. Obsahuje 35 – 45 % lepku (někdy až 54 %). Obsah stravitelného škrobu je u špaldy téměř srovnatelný s pšenicí setou, má však podstatně nižší obsah stravitelných cukrů. Špalda obsahuje 2,5 % tuku s vysokým obsahem nenasycených mastných kyselin. Stejně jako ostatní obiloviny je špalda zdrojem některých vitaminů skupiny B, především thiaminu (B1), riboflavinu (B2) a niacinu. Zrno špaldy se vyznačuje také vyšším obsahem draslíku, fosforu, vápníku, hořčíku a zinku. Má podstatně vyšší pekařskou jakost než pšenice jednozrnka a dvouzrnka, lepší technologickou zpracovatelnost a široké možnosti zpracování a uplatnění (Stehno 2001; Capouchová et al. 2014).

Zrno špaldy se dále zpracovává na kroupy, krupici, mouky, bulgur nebo vločky používané do kaší a polévek. Chléb s přidanou špaldovou moukou má výraznou chlebovou vůni, velký objem, popraskanou kůrku, výborně chutná a dlouho vydrží čerstvý a vláčný. Špalda má uplatnění i ve výrobě extrudovaných výrobků, těstovin, müsli nebo špaldové kávy. (Vavreinová et al. 2012; Capouchová et al. 2014). Pšenice špalda je řazena mezi minoritní obilniny. Je nenáročná na hnojení a na ochranu proti škodlivým činitelům. Je vhodná pro ekologické zemědělství. Zájem o její pěstování však stoupá i v konvenčním zemědělství (Tichá & Vyzínová 2006).

V ČR je registrována jediná odrůda pšenice špaldy Rubiota (ozimá forma), která je přizpůsobena klimatickým podmínkám ČR. Vznikla výběrem z genových zdrojů Genové banky při VÚRV v Praze-Ruzyni. Tato odrůda není křížena s pšenicí setou. Rubiota je náchylná k napadení padlím travním. V Německu jsou nejpěstovanějšími odrůdami Franckenkorn a Oberkulmer Rotkorn. V Rakousku jsou certifikované dvě ozimé odrůdy špaldy Ebners Rotkorn a Ostro (Konvalina et al. 2013).

3.2. Pšenice setá (*Triticum aestivum*)

Podle požadavků na jarovizaci se pšenice rozděluje na ozimou a jarní formu. Obě formy mají osinaté i bezosinaté klasy. Optimální termín sklizně je na přechodu žluté a plné zralosti a při nižší vlhkosti zrna. Při opožděné sklizni dochází ke snížení množství a kvality lepku.

Největší podíl pšeničného zrna tvoří sacharidy, nejvýznamnějším sacharidem je škrob. Obsah škrobu v zrně se pohybuje v rozpětí 50 – 70 % v závislosti na odrůdě a agroekologických podmínkách. Zrno pšenice obsahuje 1,5 – 3 % lipidů. Největší podíl lipidů je obsažen v klíčku. I přes poměrně nízký obsah v celkové skladbě pšeničného zrna mají lipidy velký význam. Jsou důležité při skladování zrna a mouk. Během skladování dochází k oxidačním změnám lipidů (žluknutí), které způsobují nežádoucí zhoršení sensorických vlastností. Lipidy mají význam i pro pekárenskou technologii. Část lipidů se váže na molekuly škrobu, bílkovin a kovových iontů a podílejí se na biochemických procesech v průběhu kynutí těsta. Pšeničné zrno obsahuje také vitaminy, především skupiny B (thiamin, riboflavin, niacin, kyselinu panthotenovou, pyridoxin a kyselinu listovou) a E (tokoferoly). Vitaminy jsou však nahromaděny v klíčku a aleuronové vrstvě zrna. Tyto části během mlýnského zpracování přecházejí do otrub a tmavých krmných mouk, proto jsou světlé mouky určené pro výživu o tyto vitaminy ochuzené. Obsah minerálních látek v zrně pšenice se pohybuje v rozmezí 1,4 – 3 % v závislosti na odrůdě, půdě a podmínkách v průběhu vegetace. V zrně je obsaženo větší množství fosforu, draslíku, síry, hořčíku, vápníku, sodíku a železa. Stejně jako u vitaminů je největší množství minerálních látek obsaženo v klíčku a obalech zrna. Ze všech látek obsažených v zrně jsou nevýznamnější bílkoviny, a to z hlediska technologického, ale i pro nutriční a krmnou hodnotu.

Aby mohla být potravinářská pšenice ozimých i jarních odrůd zařazena na Listinu povolených odrůd, musí mít odpovídající mlynářskou a pekařskou jakost. Mezi ukazatele mlynářské jakosti patří charakter endospermu, objemová hmotnost, podíl plných zrn a obsah minerálních látek. Pekařská jakost je dána vlastnostmi těsta. Při určování pekařské jakosti se stanovuje obsah bílkovin, mokrého lepku, vlastnosti lepku, enzymatická aktivita, sedimentační hodnota atd.

Pšenice je výchozí surovinou pro výrobu mouky, krupice, pšeničných vloček, škrobu a otrub (Prugar et al. 2008; Bulková 2011).

3.3. Mykotoxiny

3.3.1. Charakteristika mykotoxinů

Mykotoxiny jsou sekundární metabolity produkované některými mikroskopickými vláknitými houbami. Označení mykotoxin pochází z řeckého „mycos“ – houba a z latinského „toxicum“ – jed (Wasserbauerová 2011). V současné době je známo více než 400 mykotoxinů, ale postupně jsou objevovány a charakterizovány další, včetně jejich rostlinných a živočišných metabolitů. Z pohledu toxicity mohou být karcinogenní (aflatoxiny), hepatotoxické (HT-2 a T2 toxin), imunotoxické (patulin, trichotheceny, fumonisiny) nebo nefrotoxické (ochratoxin A) (Hajšlová et al. 2014). Jde o velmi různorodou skupinu látek s rozmanitým spektrem účinků na živé organismy. Jednotlivé mykotoxiny se od sebe odlišují svými producenty, ale také odlišnými biologickými vlastnostmi. Toxikogenní plísně se odlišují nároky na substrát, teplotu a vlhkost prostředí, a proto je problematika mykotoxinů specifická pro každou zemi. Mykotoxiny jsou závažným rizikem pro bezpečnost potravinového řetězce na celém světě a mají značný ekonomický vliv na zemědělství i zpracovatelský průmysl. V klimatických podmínkách České republiky je silná kontaminace potravin a krmiv mykotoxiny spíše výjimečná. K akumulaci mykotoxinů v zemědělských produktech může dojít během vegetace, po sklizni nebo během skladování a zpracování. Je proto velmi obtížné určit, který toxin bude produkován a v jakém množství (Sedmíková a Rajmon 2004; Prugar et al. 2008).

3.3.2 Typy mykotoxinů

Z hlediska kontaminace potravin mykotoxiny jsou nejvýznamnější houby z rodů *Aspergillus*, *Penicillium* a *Fusarium*. Jeden mykotoxin může být produkován více druhy mikroskopických hub a jeden druh hub může produkovat více typů mykotoxinů.

Aflatoxiny jsou mykotoxiny produkované druhy z rodu *Aspergillus* (především *A. flavus* a *A. parasiticus*). Je známo více než 20 druhů aflatoxinů, ale na rostlinných produktech se vyskytují především 4 aflatoxiny: B1, B2, G1, G2. Nejčastěji tyto houby napadají kukuřici, ořechy, koření a sušené ovoce. Obiloviny jako pšenice, žito, ječmen, rýže a oves jsou málo náchylné k napadení, pokud jsou skladovány ve vhodných podmínkách. V mléku a mléčných výrobcích se mohou vyskytovat odvozené aflatoxiny M1 a M2. Tyto aflatoxiny jsou produkovány během procesu trávení přežvýkavců, kteří jsou krmeni kontaminovaným krmivem. Pro růst hub rodu *Aspergillus* jsou vhodné velmi teplé podmínky a nižší vlhkost. Hlavními toxickými účinky aflatoxinů jsou hepatotoxicita a karcinogenita (Nedělník 2003, Prugar et al 2008).

Mykotoxin patulin nejčastěji produkuje houba *Penicillium expansum*, která se běžně vyskytuje na povrchu ovoce. K jejímu růstu a produkci mykotoxinů dochází při poškození povrchu ovoce (mechanicky nebo hmyzem). Patulin nejčastěji kontaminuje jablka a výrobky z nich.

Ochratoxin A je produkován houbami rodu *Aspergillus* v tropických a subtropických oblastech a houbami rodu *Penicillium* v chladnějších oblastech. Vyskytuje se v komoditách rostlinného i živočišného původu. Mezi zdroje rostlinného původu patří obiloviny, káva, sušené ovoce a koření. Hlavními toxickými účinky ochratoxinu A jsou nefrotoxicita, kancerogenita, a teratogenita. Stejně jako aflatoxiny patří ochratoxin k mykotoxinům, které kontaminují rostlinné produkty především až po sklizni, v důsledku nevhodných skladovacích podmínek, nebo v průběhu zpracování (Nedělník 2003, Prugar et al. 2008).

Většina druhů houby rodu *Fusarium* je patogenní se schopností vyvolávat onemocnění celé řady hostitelských rostlinných druhů a v průběhu patogenního procesu produkovat toxické sekundární metabolity. Patogeni z rodu *Fusarium* mohou být přítomni již v zrnu a ke kontaminaci hostitelských rostlin může dojít kdykoli během vegetace. Kang a Buchenauer (2002) zjistili, že akumulace sekundárního metabolitu DON v hostitelských tkáních může začít velmi brzy (36 hodin) po inokulaci. Maximální obsah toxinů je zaznamenáván v období sklizně a dále se významněji nemění. Hlavními skupinami mykotoxinů produkovanými houbami rodu *Fusarium* jsou trichotheceny, zearalenon,

fumonisin, moniliformin a kyselina fusarová. Trichotheceeny jsou široká skupina sloučenin sesquiterpenoidní struktury, jež inhibují syntézu eukaryotních proteinů. Do skupiny trichotheceenů patří T – 2 toxin, acetoscirpenol, deoxynivalenol (DON), nivelanol (NIV) a diacetoxyscirpenol. Bylo prokázáno, že DON je nejběžnějším mykotoxinem nacházejícím se v infikovaných zrnech. Jeho příjem může způsobit odmítání potravy i neurotické a imunotoxické účinky u savců (Bai et al. 2001). DON je také známý pod triviálním názvem vomitoxin, jelikož způsobuje zvracení (vomitus) a průjem u prasat (Malíř & Ostrý 2003). Pokud je obilnina kontaminovaná vysokými koncentracemi DON, je pravděpodobné, že se zde nacházejí i další mykotoxiny (Stejskal & Frýdová 2011). Přechod DON do živočišných produktů je zanedbatelný (Malíř & Ostrý 2003). Nejvyšší koncentrace DON jsou akumulovány v pšenici, ječmenu a kukuřici. Je velmi stabilní a jeho množství v znu se nemění ani při technologickém zpracování vstupní suroviny na finální produkt (např. zpracování kontaminované pšenice na škrob). Poměrně vysoké koncentrace DON jsou nacházeny v krmivech. Další skupinou fuzáriových mykotoxinů jsou fumonisin. Jsou to sloučeniny na bázi aminopolyalkoholů se strukturou podobnou sfingolipidům. Je prokázána vysoká akutní toxicita fumonisinů pro jaterní a ledvinové buňky u teplokrevných živočichů. Zatímco trichotheceeny jsou zjišťovány u celé řady hostitelských rostlinných druhů, fumonisin byly nacházeny převážně na kukuřici.

Při detoxifikačních procesech v obilovinách mohou vznikat vázané (maskované) formy mykotoxinů (Kostelanská et al. 2009), což prokázaly i následně uskutečněné studie zabývající se transformacemi mykotoxinů v rostlinách. Nejznámějším a doposud nejprozkoumanějším konjugátem trichotheceenů je deoxynivalenol-3-glukosid (DON-3-Glc).

Dalším významným mykotoxinem hub z rodu *Fusarium* je zearalenon. Zearalenon je strukturním analogem ženského hormonu estrogeneru, takže může ovlivňovat hormonální rovnováhu organismu (Creppy 2002; Sobrova et al. 2010). Zearalenon se nachází především v obilovinách a cereálních produktech, zejména v oblastech s teplým podnebím. Jeho výskyt v kukuřici nabývá celosvětového významu. Vysoký obsah zearalenonu v obilovinách a krmivech je spíše důsledkem nesprávného ošetření a uskladnění, než primární kontaminace na poli. Při skladování obilí zůstává velmi stabilní a nemění se ani po tepelném zpracování mouky či fermentaci. Úspěšnějším odstraňovacím postupem je alkalizace a použití chlornanů. Zearalenon může přecházet i do mléka určeného pro lidskou výživu (Mirocha et al. 1981). Vzhledem k průměrným koncentracím zearalenonu v krmivech nepředstavuje jeho přechod do tkání a mléka přežvýkavců významné riziko pro

člověka (Malíř & Ostrý 2003). Vedle estrogenního účinku zearalenon působí nepříznivě na funkci imunitního systému.

Toxicita kyseliny fusarové pro teplokrevně živočichy je v porovnání s trichothecény a fumonisiny podstatně nižší, ale zesiluje toxické účinky ostatních fuzariotoxinů (Nedělník 2003; Prugar et al. 2008).

3.3.3. Vliv mykotoxinů na technologické vlastnosti obilovin

Napadení pšenice houbami rodu *Fusarium* ovlivňuje nejen její hygienickou nezávadnost, ale i technologickou jakost mouky. 70 – 80 % DON přechází ze zrna do mouky. Díky vysoké termostabilitě je výskyt DON v chlebu přibližně stejný jako v mouce. Chléb upečený z napadeného zrna s obsahem DON vyšším než 15 ppm je výrazně sražený a propadlý.

U napadených zrn klesla klíčivost u středně odolných odrůd na 62 %, u náchylných odrůd až na 51 %. Při použití mořidel je klíčivost u středně odolných odrůd 86 %, u náchylných odrůd 59 %. Aplikací mořidla u odolných odrůd lze dosáhnout klíčivosti, která umožňuje použití zrna pro zásev (Hosnedl 2008).

Při napadení zrna dochází ke snížení výnosů a nutriční/technologické hodnoty jakosti zrna (degradací proteinů a škrobu). Fuzáriové mykotoxiny způsobují mnoho technologických problémů při zpracování. Inhibují syntézu enzymů během sladování a zpomalují růst kvasinek při výrobě piva. U HT-2 toxinu dochází během sladování ke snížení obsahu u všech sledovaných odrůd. Proces máčení napomáhá k redukci obsahu mykotoxinů, které díky své polaritě přechází do máčecí vody (Malachová et al. 2010).

3.3.4. Vliv mykotoxinů na hospodářská zvířata

Příznaky mykotoxinóz u hospodářských zvířat, které jsou vyvolané trichothecenovými mykotoxiny, nejsou příliš specifické. V našich podmínkách se akutní intoxikace trichothecenovými mykotoxiny objevují jen zřídka. Příznaky otravy jsou odmítání potravy a zvracení, podráždění kůže a krvácivostí žaludku a střev. Z hospodářských zvířat jsou na toxikózy nejnáchylnější prasata. Více odolná je drůbež a nejodolnějšími jsou přežvýkavci, u kterých se toxikózy objevují jen zřídka. Pokud jsou zvířata vystavena pouze nízkým dávkám mykotoxinů, dobře se uzdravují, jakmile je odstraněn zdroj kontaminovaného krmiva (Sedmíková & Rajmon 2004).

3.4. Fuzariózy obilnin

3.4.1. Úvod

Zástupci rodu *Fusarium* jsou součástí půdního ekosystémů, v němž se podílejí na rozkladu organické hmoty. Některé druhy rodu *Fusarium* se využívají v biotechnologii pro výrobu mykoproteinu quoronu. Mikroskopické vláknité houby rodu *Fusarium* se nejčastěji vyskytují na pšenici ozimé i jarní, ječmenu, ovsu a kukuřici. Méně časté je napadení u žita a triticales. Výskyt fuzarióz v jarním ječmeni je velmi nežádoucí, protože při dalším zpracování napadené suroviny dochází k nežádoucímu přepěňování piva (gushing). Do potravního řetězce se mykotoxiny mohou dostat jak přímou konzumací kontaminované produkce, tak i v krmivech a následně živočišnými produkty (Malíř & Ostrý 2003; Miraglia et al. 2009; Chrpová et al. 2007).

U pšenice se napadení zrna projevuje ztrátou zelené barvy květních obalů, pluch a plev. Následuje tvorba konidií, které mají růžové zbarvení. Primárním zdrojem inokula houby z rodu *Fusarium* jsou zbytky předplodin (nejvíce zbytky kukuřice na zrno, ale i zbytky obilnin, luskovin, vojtěšky a jetele). Dalším zdrojem inokula je nedostatečně nebo nesprávně namožené osivo. *Fusarium* napadá obilniny ve všech fázích vývoje počínaje klíčením (Chrpová et al. 2007).

3.4.2. Původci klasových fuzarióz a jimi produkováné mykotoxiny

V České republice je každý rok zjišťováno kolem 15 druhů rodu *Fusarium* a *Microdochium nivale* jako původců klasových fuzarióz. Významnými producenty mykotoxinů na pšenici a ječmenu jsou druhy *F. graminearum* a *F. culmorum* (na obrázku č. 1), které produkují trichotheceny typu B. Nejsledovanějším mykotoxinem této skupiny je deoxynivelanol (DON), který patří mezi méně toxické trichothecenové mykotoxiny, ale využívá se jako indikátor možného výskytu jiných toxičtějších trichothecenů. Dalšími významnými mykotoxiny produkovánými rody *F. graminearum* a *F. culmorum* jsou nivelanol (NIV) a zearalenon (ZEA) a jeho deriváty. Na ovsu se vyskytují druhy *F. sporotrichoides*, *F. langsethiae* a *F. poae*, které produkují trichotheceny A (T- a HT-2 toxiny) (Miraglia et al. 2009).



Obrázek č. 1: Spóry *Fusarium culmorum*

Foto Jana Palicová

3.4.3. Stanovené limity

Stanovený limit pro nezpracované obiloviny kromě pšenice tvrdé, ovsu a kukuřice je pro DON je 1,25 mg/kg, a pro ZEA 0,1 mg/kg (Nařízení Komise (ES) č. 1881/2006 z 19. 12. 2006 v platném znění ES č. 1126/2007). V nezpracovaném ovsu pro potravinářské účely je stanoven limit DON 1,75 mg/kg a ZEA 0,1 mg/kg. Fumonisinů jsou limitovány pouze v kukuřici jako suma fumonisinů B1 a B2 (limit 4 mg/kg). T-2 a HT-2 toxiny jsou uvedeny mezi limitovanými, nemají ale zatím stanovenou limitní hodnotu. Maximální limit je stanovený pro nezpracované obiloviny, které jsou uváděné na trh k prvotnímu zpracování. Prvotní zpracování zahrnuje tepelné či fyzikální ošetření zrna. Za prvotní zpracování se nepovažuje čištění, třídění a sušení, pokud není na samotné zrno vyvíjeno fyzikální působení a pokud zrno zůstane po čištění a třídění neporušené. Pro obiloviny určené k přímé lidské spotřebě a obilnou mouku jsou stanovené limity pro maximální obsah DON 750 µg/kg, u pečiva a snídaňových cereálií 500 µg/kg a u potravin určených pro děti 200 µg/kg. Limit je však stanoven pro potravinářské obilí, ale fuzariové mykotoxiny jsou stejně nebezpečné pro člověka i pro hospodářská zvířata. V krmivech a krmných surovinách je legislativně limitován pouze aflatoxin B1 a námel (*Claviceps purpurea*), a to směrnicí 2002/32/ES o nežádoucích látkách v krmivech. Tyto hodnoty jsou různé pro různé druhy zvířat i jejich stáří (Polišenská 2018).

Kontaminované obilí by proto nemělo být používáno ani jako surovina pro výrobu krmiv. Při dlouhodobějším zkrmování kontaminovaného krmiva se u zvířat mohou objevit chronické toxikózy a vážným dopadem na zdravotní stav a tím i na užitkovost.

Fuzariové toxiny jsou velmi stabilní (především zearalenon) a mohou přecházet do masa, mléka a vajec. Tímto způsobem se mohou dostat do potravního řetězce lidí (Polišenská et al. 2011; Prokinová 2011; Chrpová et al. 2015 a).

V ČR probíhá monitorování fuzariových toxinů a dalších mykotoxinů na několika úrovních – v rámci úřední kontroly dozorovými orgány (Státní zemědělská a potravinářská inspekce, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský a Státní veterinární správa), jednak prostřednictvím výzkumných organizací, univerzit a vysokých škol (Nedělník 2014).

Odběry vzorků jsou prováděny prakticky ve všech fázích potravinového řetězce – v maloobchodě, ve velkoobchodě, ve výrobě a v případě kontroly dovozu ze třetích zemí přímo na celnici v místě vstupu (Cuhra 2018).

3.5. Faktory ovlivňující obsah mykotoxinů v obilovinách

3.5.1. Úvod

Stupeň napadení a kontaminace zrna ovlivňuje mnoho faktorů. Úplné eliminace klasových fuzarióz a výskytu mykotoxinů v zrna za reálných podmínek nelze dosáhnout. Lze však přispět k minimalizaci mykotoxinové kontaminace obilovin dodržováním zásad správné zemědělské praxe. Ty zahrnují střídání plodin, správně ošetření půdy po sklizni i před setím a aplikaci hnojiv a pesticidů (Edwards 2004). Schaafsma a Hooker (2007) zjistili, že obsah DON je ze 48 % ovlivňován podmínkami prostředí, z 27 % odrůdou a ze 14 – 28 % předplodinou; avšak orební systém přispíval k proměnlivosti v obsahu DON méně než 5 %.

Rozhodující je také průběh počasí v daném roce (především srážky a teplota) a použití odrůd s vyšší úrovní rezistence. Významným faktorem u potravinářské pšenice je čištění zrna, které může snížit obsah DON oddělením napadených obilek až o 50 %. Česká republika nepatří k nejvíce ohroženým oblastem světa, ale přesto v některých ročnících dochází ke zvýšenému výskytu klasových fuzarióz a k překročení limitů maximálního obsahu mykotoxinů. U pšenice bylo zjištěno, že na území České republiky se nachází oblasti s každoročním výskytem klasových fuzarióz. Na základě výsledků monitoringu uskutečněného ve spolupráci VÚRV a ÚKZÚZ (dříve Státní rostlinolékařská správa) byly vymezeny oblasti se zvýšeným rizikem výskytu klasových fuzarióz (Bártová et al. 2010). Nadlimitní hodnoty DON byly opakovaně zjištěny na východě Moravy, v jihozápadních

Čechách i na severovýchodě Čech. Další výzkum (Sumíková et al. 2017 a, b) uskutečněný v období 2014-17 přinesl zjištění, že nejvíce vzorků pocházelo z jihozápadních Čech (Plzeňsko, Domažlicko) a ze severní Moravy (Jesenicko, Opavsko). Jako méně ohrožená se dlouhodobě jeví oblast Českomoravské vysočiny. Nadlimitní hodnoty mykotoxinů byly často stanovovány v oblastech v blízkosti říčních toků a rybníků. Opakovaně byl také prokázán zhoršující vliv kukuřice jako předplodiny. V důsledku globálního oteplování a klimatických změn se rozšiřují dříve méně běžné druhy fuzárií. Díky tomu se spektrum mykotoxinů v různých komoditách každý rok mění a bývá výrazně pestřejší (Miraglia et al. 2009).

3.5.2. Klimatické podmínky

Dominantní vliv na vznik infekce a následné šíření choroby má vzdušná vlhkost, teplota a srážky v době kvetení. Největší riziko vzniku infekce je v případě, kdy jsou v době přibližně tři dny před začátkem kvetení do konce kvetení klasy stále vlhké v důsledku častých srážek a teplota se pohybuje v rozmezí 18 - 24°C (15 - 30°C). Obecně je riziko zvýšeno v letech s převládajícím chladným a vlhkým počasím v jarních měsících a extrémními teplotami a suchem během léta. Riziko se zvyšuje i u obilovin sklizených koncem léta po dlouhé periodě dešťů (Nedělník 2014).

Druhovému složení a frekvenci výskytu jednotlivých druhů závisí na klimatických podmínkách. V České republice donedávna dominoval druh *Fusarium graminearum* s. str., který nahradil do té doby nejrozšířenější *F. culmorum* (Sýkorová et al. 2003). V současnosti je u nás nejrozšířenějším původcem fuzarióz klasu pšenice druh *F. poae*, jehož dominance byla poprvé zaznamenána v roce 2012 (Chrpová et al. 2016). Velmi proměnlivé zastoupení druhu *F. poae* (2 - 81 %) však již zaznamenali ve své studii Nedělník et al. (2007). Nejvýznamnějším důvodem ve změně druhového složení jsou pravděpodobně zejména rozdílné nároky jednotlivých druhů na optimální životní podmínky. Největší zastoupení tohoto druhu bylo zjištěno v roce 2003, kdy od začátku roku do konce září téměř na třetině území spadlo jen kolem 50 procent srážek v porovnání s dlouhodobým normálem.

F. poae se daří v relativně suchých a teplých podmínkách, *F. graminearum* se vyskytuje v teplých a vlhkých podmínkách a *F. avenaceum* a *F. culmorum* se častěji vyskytují v chladnějších a vlhkých podmínkách (Xu et al. 2008; Prokinová 2011). Průběh počasí ovlivňuje průběh infekce, a to jak dozrávání inokula na posklizňových zbytcích, tak samotný proces infekce, pro který je vhodné vlhčí a teplejší počasí (Polišenská & Jirsa 2009 a).

3.5.3. Rezistence odrůd

Odolnost pšenice ke klasovým fuzariózám je polygenně založená a má různé komponenty. V současné době je rozlišováno 7 komponentů, z nichž jsou nejvýznamnější: I. odolnost k invazi patogenu, II. odolnost k šíření patogenu, III. odolnost k infekci zrn, IV. tolerance, V. odolnost k akumulaci mykotoxinů (Mesterházy 1995, 2002). Při napadení klasu patogeny z rodu *Fusarium* jsou významné také morfologické vlastnosti rostlin označované mechanismy pasivní rezistence. Jedná se především o výšku rostliny (Draeger, et al. 2007; Mesterházy 1995; Paillard et al. 2004), typ kvetení a uvolnění prašníků (Kubo et al. 2013; Skinnes et al. 2010), hustotu (kompaktnost) klasu (Schmolke et al. 2005) a uzavřenost obilek v pluchách i v době zralosti (pluchaté pšenice). Draeger et al. (2007) a Gosman et al. (2007) udávají, že ve Velké Británii, kde vysoce převažuje přítomnost genu pro krátkostébllost Rht-D1b, jsou odrůdy obecně náchylné k fuzarióze klasu. U rostlin s delším stéblem většinou dochází ke snížení vlhkosti v klasech a tím se vytvářejí méně příznivé podmínky pro rozvoj patogenu i k akumulaci mykotoxinů. Existuje také předpoklad, že náchylnost k fuzarióze klasu u genotypu s geny z odrůdy Norin 10 je přímo pleiotropním efektem těchto genů (Holzapfel et al. 2008; Nicholson et al. 2008). Ve studii provedené Mankevičienė et al. (2014) byla zjištěna významně vyšší koncentrace fuzariových toxinů v pluchách než v loupáných zrnech, což naznačuje možný ochranný charakter obalů zrna u špaldy. Tyto výsledky jsou v souladu s předchozími pozorováními (Wiwart et al. 2009). Schmolke et al. (2005) zjistili vazbu mezi dalším faktorem nepřímo ovlivňujícím akumulaci DON, kterým může být ranost odrůdy (Chrpová et al. 2007).

Pro snížení rizika rychlého překonání odolnosti je nezbytné pěstovat více odolných odrůd s různým typem odolnosti. Čím je skladba pěstovaných odrůd pestřejší, tím menší je riziko šíření chorob. V podmínkách monokultur se účinnost odolnosti odrůd pěstovaných na velkých plochách snižuje. Příčinou snížení odolnosti je adaptace patogenů (Seznam doporučených odrůd Obilniny 2018).

3.5.4. Agrotechnická opatření

Cílem agrotechnických opatření je redukce patogenu na posklizňových zbytcích. K nejsilnějšímu napadení klasů dochází, je-li předplodinou kukuřice (Dill-Macky 2008). Nejúčinnější kombinací ochranných opatření představuje orba, pěstování středně odolné odrůdy a cílená aplikace fungicidů (triazoly) do klasů. Tato opatření vedou ke snížení koncentrace DON o 97 % v porovnání s kombinací rizikových faktorů, které představuje

bezorebné setí, zařazení náchylné odrůdy a pěstování bez fungicidní ochrany (Blandino et al. 2009). Odlišný způsob agronomického zpracování půdy, hloubka orby, střídání plodin, nepoužívání herbicidů, minerálních hnojiv, odlišný sortiment odrůd pěstovaných v ekologickém zemědělství může vést k rozdílům v kontaminaci zrna mykotoxiny u ekologicky a konvenčně pěstovaných plodin. Odborná literatura zabývající se výskytem mykotoxinů neuvádí zcela jednoznačné závěry (Bolechová et al. 2014).

3.5.5. Aplikace fungicidů

Cílená aplikace fungicidů ve správném termínu (BBCH 61 - 69) v kombinaci s výběrem odrůdy s vyšším stupněm rezistence výrazně snižuje kontaminaci zrna mykotoxiny. Fungicidy potlačují projev choroby a akumulaci mykotoxinů v zrna a měly by být použity podle podmínek daného ročníku. Při rozhodování, zda se přistoupí k cílené ochraně, je také třeba brát v úvahu předplodinu, způsob zpracování půdy i to, zda v dané oblasti byly v minulosti problémy s nadlimitním obsahem mykotoxinů. Dále je třeba zohlednit stav vegetace před kvetením (jestli již nejsou napadena nižší patra rostlin) a v neposlední řadě povětrnostní podmínky v nejbližších dnech před kvetením. Jako rozhodující se pro hromadění deoxynivalanolu ukázaly teplotní a vlhkostní podmínky 4 – 7 dní před kvetením a 3 – 6 dní po kvetení. Při aplikaci fungicidů je nutné dodržení termínu i doporučené dávky. Vzhledem k tomu, že byla prokázána velmi časná tvorba DON (Kang a Buchenauer 2002; Chrptová et al. 2006) a opožděná aplikace fungicidů je neúčinná (Chrptová et al. 2008).

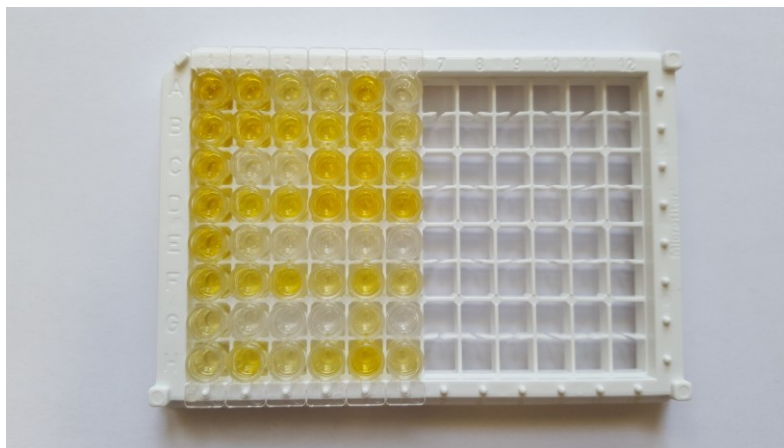
3.5.6. Skladování

Tříděním a čištěním lze v případech vysokého napadení suroviny plísněmi velmi výrazně zredukovat množství mykotoxinů (až o 32 %). Velmi významné je i kvalitní skladování, v současné době se zvyšují požadavky výkupních organizací a mlýnů na posklizňovou kvalitu obilovin (Aulický et al. 2017). Po sklizni je třeba udržovat fyzikálně-chemické podmínky na takových úrovních, aby nedocházelo k růstu hub. Významnými faktory jsou teplota a vlhkost prostředí. Vysoká teplota a vlhkost při skladování podporují rozvoj plísní a tím i výskyt mykotoxinů (Sedmíková & Rajmon 2004; Tvrzník et al. 2007).

3.6. Detekce mykotoxinů

3.6.1. ELISA

ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) je imunologická metoda používaná pro detekci patogenních organismů a jejich toxinů. Podle zaměření umožňuje detekovat konkrétní mikrobiální rod, druh a sérotyp. Společným znakem ELISA metod je zakotvení (adsorpce nebo kovalentní navázání) protilátky na pevný nosič. K označení protilátek se používá enzym (nejčastěji alkalická fosfatáza), který katalyzuje přeměnu substrátu na barevný produkt. Vyhodnocení testu se provádí vizuálně nebo spektrofotometricky. Nejpoužívanějším typem ELISA metod je přímá sendvičová ELISA. Cílový antigen je obalen dvěma protilátkami – imobilizovanou vazebnou protilátkou a enzymaticky značenou detekční protilátkou. V průběhu testu je antigen zachycen a poté detekován. Na povrch pevného nosiče jsou navázány vazebné (imobilizované protilátky). Po přidání vzorku dojde k vazbě cílových antigenů na protilátky. Poté následuje promytí, kterým se odstraní zbytky vzorku. Do jamek se přidá konjugát (detekční enzymaticky značené protilátky, které se váží na cílové antigeny). Dalším promytím se odstraní nenavázané protilátky. Po přidání substrátu katalyzuje enzym jeho přeměnu na barevný produkt. Na závěr lze přidat stop roztok, který ukončí enzymatickou aktivitu. Barevná reakce se hodnotí podle barevné šablony nebo spektrofotometricky (Bursová & Necidová 2014).



Obrázek č. 2: Destička pro ELISA test

3.6.2. Kapalinová chromatografie

Chromatografie je vysoce účinná separační metoda, která slouží k oddělení analyzovaných složek ze směsi a současně k jejich kvalitativní a kvantitativní analýze. Vzorek je vnášen mezi dvě vzájemně nemísitelné fáze. Nepohyblivá (stacionární) fáze je schopna různou silou zadržovat jednotlivé složky analyzovaného vzorku. Jednotlivé složky směsi jsou mobilní fází eluovány ze stacionární fáze a unášeny ve směru toku různou rychlostí, čímž dochází k jejich oddělení.

Stacionární fáze může být tuhá (sorbet), nebo kapalná. Mobilní fáze je kapalná (eluční činidlo), nebo plynná (nosný plyn). Hybnou silou je v chromatografii tok mobilní fáze, která unáší ionty nebo molekuly. Dělení látek v systému závisí na brzdící síle (retenci), která působí selektivně (některé složky jsou bržděny více, jiné méně). Rychlost postupu jednotlivých látek je závislá na sorpční rovnováze, tzn. čím pevněji je látka sorbována na stacionární fázi, tím pomaleji postupuje v chromatografickém systému (Klouda 2003; Karlíček 2009).

Účinnost separace kapalinové chromatografie závisí na velikosti částic stacionární fáze. K dělení látek lze využít všech vratných dvoufázových separačních mechanismů (adsorpce, rozdělování, iontový výměna, síťový efekt gelu). Proto lze tuto metodu použít pro dělení směsi prakticky všech organických látek rozpustných ve vodě, zředěných kyselinách nebo organických rozpouštědlech. Oproti plynové chromatografii umožňuje kapalinová chromatografie analýzu netěkavých látek, tepelně nestálých látek a polymerů.

Pokud je dělena směs látek, jejíž eluční parametry se příliš neliší, používá se izokratická eluce jednou mobilní fází, jejíž složení se příliš nemění. U některých směsí nelze tímto způsobem dosáhnout optimálního dělení, především pokud se jednotlivé složky směsi výrazně liší svými elučními parametry. V tomto případě je používána gradientová eluce, při které se k jedné mobilní fázi plynule přimíchává rostoucí množství druhé mobilní fáze s vyšším elučním účinkem (Klouda 2003; Karlíček 2009)

3.6.3. Diagnostický klíčící test

K objektivnímu posouzení celkové mykotoxinové kontaminace obilovin pro potravinářské využití slouží také diagnostický klíčící test. Klíčící test spočívá v přípravě vzorků a uvolnění vázaných forem mykotoxinů v zru. Druhou částí testu je stanovení DON, D3G, 3-/18-ADON v připraveném vzorku naklíčeného zrna pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací hmotnostní detekcí (U-HPLC-HRMS). Výhodou tohoto postupu je umožnění detekce maskovaných mykotoxinů (Pazderů et al. 2013).

4. Materiál a metodika

4.1. Rostlinný materiál

Hodnocení rezistence k fuzarióze klasu bylo provedeno u odrůd pšenice špaldy a pšenice seté. Výsledky vycházejí z pokusů uskutečněných v ročnících 2016 – 2018. Charakteristika počasí v měsících květen až červenec je uvedena v tabulce č. 1. Termín inokulace byl v roce 2016 30.5. – 5.6., v roce 2017 29.5. – 6.6. a v roce 2018 15.5. – 31.5. Pro podporu rozvoje infekce byla používána závlaha.

Tabulka č. 1: Průměrné teploty a suma srážek na lokalitě Praha-Ruzyně (květen – červenec 2016 – 2018)

		Teploty (°C)			Srážky (mm)		
		2016	2017	2018	2016	2017	2018
Květen	1-5	11.1	11.0	14.8	6.0	12.0	0.0
	6-10	16.4	10.0	17.5	0.0	3.4	2.8
	11-15	13.4	15.3	17.8	2.5	15.0	0.0
	16-20	12.1	18.3	14.2	0.2	0.0	17.2
	21-25	17.1	15.4	18.7	11.0	1.3	5.8
	26-30	18.1	20.4	22.4	11.0	5.6	0.0
Červen	1-5	17.8	18.5	20.6	6.7	5.4	17.9
	6-10	18.6	17.0	21.8	0.2	10.7	14.3
	11-15	16.9	19.9	17.2	6.0	0.1	35.2
	16-20	16.9	20.2	20.6	26.4	6.7	0.1
	21-25	22.7	22.1	15.0	9.1	13.9	2.3
Červenec	1-5	19.2	18.8	17.8	11.0	61.5	8.4
	6-10	19.3	18.4	19.0	6.7	3.7	2.9
	11-15	19.9	22.9	19.5	0.0	2.6	3.2
	16-20	18.8	16.7	19.2	17.2	12.4	1.0
	21-25	19.8	21.6	22.4	3.9	2.1	0.0
	26-30	22.4	20.1	23.6	3.4	7.5	2.9

Odolnost k fuzarióze klasu byla hodnocena u 80 odrůd ozimé formy špaldy (*Triticum spelta*) různého původu. Odrůdy byly hodnoceny v rámci projektu 7. Rámcového programu EU s názvem „Integrovaný přístup k zajištění širokého genetického základu, odolnosti ke stresu, vhodné agrotechniky a potravinářského zpracování minoritních obilovin s cílem

jejich širšího využití pro lidskou výživu v Evropě“ (akronym HealthyMinorCereals). Dále bylo hodnoceno 39 vzorků odrůd pšenice seté (*Triticum aestivum*) ve spolupráci s Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským. Analyzované odrůdy a jejich vlastnosti a původ jsou uvedeny v tabulkách č. 2 a 3. Odrůdy byly hodnoceny ve třech opakováních ve třech ročnících, tedy celkem bylo provedeno 9 hodnocení pro každý zkoušený genotyp. Pro analýzy obsahu mykotoxinu deoxynivalanolu bylo využito sklizené zrno. U druhého opakování pšenice špaldy z ročníků 2017 a 2018 byla provedena také analýza plev (stanovení obsahu mykotoxinů v plevách).

4.2. Pomůcky

Umělá inokulace

- Inokulum
- Laboratorní sklo
- Polyetylenové sáčky
- Mlátička Wintersteiger

Příprava a analýza vzorků

- Laboratorní sklo
- Automatické pipety
 - Repetman (Gilson)
- Dávkovač na destilovanou vodu Dispensette S Digital 5 – 50 ml (Brand GmbH + CO)
- Stopky

4.3. Chemikálie

- Destilovaná voda
- Standardy a činidla pro ELISA testy (R-Biopharm)
- Inokulum

4.4. Přístroje

- Mlýnek Yellowline A10
- Analytické váhy
- Třepačka HS 501 digital (IKA LABORTECHNIK)
- Spektrometr Sunrise (Schoeller instruments)

Tabulka č. 2: Charakteristika odrůd pšenice seté (*Triticum aestivum*)

Odrůda	Registrace v ČR	Původ	HTZ (g)	Výška rostliny (cm)
ALOMAR	-	DE	43	86
ANNIE	2014	CZ	47	99
ATUAN	2018	DE	41	84
BAKFIS	208	CZ	40	92
BALITUS	2015	AT	45	92
BERNSTEIN	2015	DE	49	106
BISCAY	2005	DE	44	84
BOHEMIA	2007	CZ	49	108
BUTTERFLY	2017	CZ	47	102
CECILIUS	2018	AT	45	89
DAGMAR	2012	CZ	46	95
ELLY	2010	CZ	44	96
FAKIR	2013	DE	44	92
FAUNUS	2016	AT	42	96
FRISKY	2015	FR	40	86
FUTURUM	2016	FR	39	80
GAUDIO	2017	AT	43	94
GENIUS	2014	DE	41	90
GORDIAN	2014	CH	39	85
HYFI	2016	FR	44	97
HYKING	2018	FR	41	82
JOHNSON	2018	FR	40	82
JULIE	2014	CZ	47	100
KWS SILVESTRONE	2018	GB	45	81
LG ORLICE	2019	DE	43	84
LG IMPOSANTO	2017	FR	45	94
PANKRATZ	2015	DE	38	91
PATRAS	2013	DE	48	90
PROTEUS	2017	FR	43	86
RGT CESARIO	2018	FR	38	79
RGT SACRAMENTO	2017	FR	43	83
RIVERO	2016	DE	40	89
SULTAN	208	CZ	44	102
SHERIFF	217	DK	39	85
STEFFI	2017	CZ	45	104
TURANDOT	2012	CZ	49	99
VANESSA	2013	CZ	43	90
VIKY	Odrůda registrovaná v jiném státě EU	CZ	44	103
ZEPPELIN	2013	DE	47	94

Tabulka č. 3 a: Charakteristika odrůd pšenice špaldy (*Triticum spelta*) č. 1 – 40

Odrůda	HTZ (g)	Výška rostliny (cm)	Hustota klasu (1-9) ¹
ALBIN	48,0	120,2	7
ALKOR	47,6	117,2	8
ALTGOLD	51,0	124,3	8
BADENGOLD	45,6	121,7	6
BADENKRONE	45,5	101,8	4
BADENSTERN	54,1	113,3	4
BLACK FOREST	48,7	112,5	4
BURGDORF WEISSKORN BGD1	59,8	131,2	8
BURGHOF	60,7	132,7	8
CERALIO	53,9	129,2	5
COSMOS	43,8	111,7	6
EBNERS ROTKORN	54,7	134,2	4
ELSENEGGER	57,4	134,2	7
EPANIS	51,7	114,2	5
FARNSBURG ROTKORN FB6	51,9	140,0	4
FILDERSTOLZ	52,4	109,2	4
FRANCKENKORN	51,1	117,0	6
FRIENISBERG WEISSKORN FBG49	55,1	132,2	7
FUGGER BABENH ZUCHTVEESEN	49,5	142,0	4
GOLDIR	62,2	133,8	8
GUGG 11A	55,7	134,2	3
GUGG 2F	55,7	144,2	5
GUGG 2G	56,3	129,2	5
GUGG 4E	52,1	143,8	4
GUGG 4H	52,7	139,3	5
GUGG 5A	46,8	131,2	5
GUGG 5C	52,4	133,3	6
GUGG 6A	52,1	137,5	5
GUGG 9A	55,1	132,5	8
GUGG 9F	47,1	130,8	6
H57-7	50,0	110,3	8
HERCULE	45,4	116,5	7
HOLSTENKORN	44,5	122,0	6
HUESLERS-NIEDERWILL 19	49,1	134,2	6
LANTVETE FRAN GOTLAND	45,0	122,5	6
LIESTAL ROTKORN L11	52,2	138,3	6
LONIGO	45,2	118,3	5

¹ Hustota klasu 1 = velmi volný, 3 = volný, 5 = střední, 7 = hustý, 9 = velmi hustý

Tabulka č. 3 b: Charakteristika odrůd pšenice špaldy (*Triticum spelta*) č. 41 - 80

Odrůda	HTZ (g)	Výška rostliny (cm)	Hustota klasu (1-9) ²
LW 12 NUERTINGEN	50,7	129,2	5
LW 13 NUERTINGEN	53,9	138,7	6
MURI ROTKORN	47,2	139,0	5
NEUEGGER WEISSKORB NGG42	58,0	131,2	9
OBERKULMER	54,3	142,5	6
OEKO 10	54,9	135,8	5
OSTRO	54,4	133,7	4
POEME	45,8	117,8	7
RINIKER WEISSKORN	54,5	130,0	6
ROTER SCHLEGEL DINKEL	52,1	135,8	5
ROSÉN SEL	50,5	124,2	7
ROTTWEILER FRÜH KORN	46,9	137,5	4
ROTTWEILER DINKEL ST. 6	50,2	133,0	6
ROUQUIN	52,1	130,8	8
RUBIOTA	54,4	142,8	7
RUEFENACHTER WEISSKORN RF6	56,4	137,0	9
SALEZ	54,1	136,0	5
SAMIR	53,5	117,5	4
SCHAFFISHEIM WEISSKORN SCH6	49,4	137,5	9
SCHNOTTWILER WEISSKORN 35	54,2	135,0	9
SCHWABENSPELZ	48,8	122,5	6
SOFIA 1	57,0	140,0	5
SPY	50,4	114,5	7
STRICKHOF	49,8	137,5	7
T.SP RUZYNE SVTLA	50,8	130,5	7
T.SPELTA ALBUM	51,0	125,8	7
TAURO	56,5	130,8	8
THUERIG ROT KORN TH4	50,6	136,7	7
TITAN	53,5	128,7	7
TOESS 5B	51,5	134,7	7
TOESS 6D	51,3	139,5	8
TSP KROMERIZ	43,5	130,0	4
V. RECHBERG BRAUNER WINTER SPELZ	51,4	137,5	7
VON RECHBERGS FRÜHER WINTERDINKEL	50,3	129,2	8
VÖGELERS	47,6	123,8	6
VORENVALDER WEISSKORN VR15	54,2	129,7	8
WAGGERSHAUSER WEISSER KOLBEN	49,1	128,0	8
WILLISAUER WEISSKORN WIL17	55,8	126,3	8
WINIGER-EGG WEISSKORN W19	58,8	127,5	9
ZEINERS WEISSER SCHLEGELDINKEL	45,3	125,0	8

² Hustota klasu 1 = velmi volný, 3 = volný, 5 = střední, 7 = hustý, 9 = velmi hustý

4.5. Příprava vzorků

Příprava inokula

Pro produkci inokula slouží metoda pěstování houby na sterilovaných zrnech pšenice v Erlenmayerových baňkách. Do skleněné baňky se naváží 50 g zrna pšenice, přidá se 40 ml destilované vody a autoklávuje se po dobu 20 minut při 120 °C. Po vychladnutí se vzorek znovu autoklávuje za stejných podmínek. Po vychladnutí se přidá fragment agarů s příslušným kmenem fuzárií. Po dobu 7 – 10 dnů se vzorek umístí pod UV lampu při teplotě 20 °C a každý den se důkladně protřepe. Po stimulaci infekčního materiálu UV světlem je substrát usušen a uskladněn k dalšímu použití. Výběr druhu fuzárií pro umělou inokulaci je prováděn podle účelu pokusu. Pro inokulaci aplikací byl použit vysoce patogenní izolát B, druh *F. culmorum* (Šíp et al. 2002). Před inokulací byla připravena zásobní suspenze. Substrát obsahující konidie patogenu se na 30 minut namočí do vody a následně se mikroskopicky stanoví počet konidií na 1 ml zásobní suspenze (Bürkerova komůrka) (Tvarůžek et al. 2012).



Obrázek č. 3: Příprava inokula

Foto Tvarůžek et al. 2012

Inokulace cíleně vybraných klasů

Bylo inokulováno 10 vybraných klasů suspenzí spor ve fázi 65 (střed kvetení). Po aplikaci inokula byly klasy překryty na 24 hodin polyetylenovým sáčkem pro zajištění konstantní vysoké vlhkosti a ochrany před případnými srážkami nebo závlahou, které by mohly inokulaci smýt. Tato metoda umožňuje dosáhnout vysokých hodnot obsahu DON, což umožňuje lépe posoudit odrůdové rozdíly v rezistenci k napadení fuzárií (Chrpová et al. 2015 b).

Příprava pro analýzu

V době zralosti proběhla ruční sklizeň infikovaných klasů. Výmlat byl proveden na klasové mlátičce Wintersteiger. U pšenice špaldy bylo následně provedeno ruční vyloupání zrn, tak aby mohly být analyzovány zvláště zrna a plevy.

Vzorky byly homogenizovány na mlýnku po dobu 20 vteřin. Do odměrné baňky bylo naváženo 2,5 g vzorku a přidáno 50 ml destilované vody. Poté byly vzorky umístěny na 3 minuty na třepačku. Po protřepání byly vzorky zfiltrány (na obrázku č. 4 jsou vzorky pšenice po filtraci). Poté byly vzorky nanесeny na destičku pro ELISA test a dále se postupovalo podle návodu výrobce.



Obrázek č. 4: Příprava vzorků pro ELISA test

Hodnocení rezistence

Hodnocení symptomů v klasech

Obvykle se hodnotí ve třech termínech (v 7denních intervalech). Začíná se 14. den po inokulaci, ale je možné hodnotit i dříve, pokud se objeví příznaky. Výsledné symptomatické hodnocení, které je prováděno po ukončení infekční doby (28. popř. 35. den po inokulaci), vychází z procenta napadení klasů a intenzity symptomatické reakce. Pro hodnocení byla použita devítibodová stupnice ÚKZÚZ, kdy 9 < 5%, 8 = 5-17 %, 7 = 18-30 %, 6 = 31-43 %, 5 = 44-56 %, 4 = 57-69%, 3 = 70-82 %, 2 = 83-95 %, 1 > 95% napadení. Symptomatické hodnocení odrůd pšenice špaldy je obtížnější, protože symptomy napadení splývají se zbarvením klasu, které se objevuje v průběhu dozrávání. (Chrprová et al. 2015 b).

Hodnocení odolnosti odrůd

Odrůdy se stupněm odolnosti **9 – 8** jsou **odolné**, patogen je nenapadá nebo je napadá minimálně, nedochází ke ztrátám výnosu ani ke snížení kvality.

Odrůdy se stupněm odolnosti **7 – 6** jsou **středně odolné**, může se u nich projevit choroba a zapříčinit menší ztráty. Ošetření fungicidy (zvláště u odrůd s bodovým hodnocením 7) se však nevyplácí

Odrůdy se stupněm odolnosti **5 – 4** jsou **méně odolné**, choroba může vyvolat výrazné ztráty, výskyt choroby na těchto chorobách je nutné sledovat, je častá potřeba ošetření fungicidy

Odrůdy se stupněm odolnosti **3 – 1** jsou **náchylné**, při jejich pěstování je obvykle nutné včasné, někdy i opakované, ošetření fungicidy. Neměly by být pěstované v lokalitách s častým výskytem dané choroby (Seznam doporučených odrůd Obilniny 2018).

Pro získání dostatečných informací o rezistenci odrůd musí být bodové hodnocení intezity napadení klasů doplněno o stanovení obsahu nejvýznamnějšího toxinu deoxynivalenolu (DON). Podle rozhodnutí ÚKZÚZ (Seznam doporučených odrůd Obilniny 2018) jsou nejlépe hodnocené odrůdy s nízkými obsahy DON v testech označeny jako méně náchylné, odrůdy se středním obsahem DON jako náchylné a odrůdy s vysokou akumulací DON jako velmi náchylné. Ve VÚRV, v.v.i. jsou ve spolupráci s ÚKZÚZ, se šlechtiteli i v rámci výzkumných projektů prováděny kontrolované pokusy s cílenou umělou infekcí prováděnou během květu pšenice. Koncentrace deoxynivalenolu v těchto vzorcích může

dosáhnout až stonásobné hladiny v porovnání s přirozeně kontaminovanými vzorky, což umožňuje rozeznat rozdíly v rezistenci mezi testovanými genotypy (Prohasková et al. 2010).

Statistické vyhodnocení

Výsledky byly zpracovány statistickým programem Statistica 13.3 a Unistat 6.5. Pro statistické hodnocení výsledků byly využity následující metody: analýza rozptylu, Turkey – HSD (mnohonásobné porovnávání) a korelace (Spearmanovo pořadí).

5. Výsledky

Hodnocení odrůdové rezistence

Byly analyzovány odrůdy hodnocené na rezistenci k fuzarióze klasu v období 2016 – 2018. Výsledky hodnocení rezistence odrůd pšenice seté znázorňuje tabulka 4, ve které jsou odrůdy seřazeny podle průměrného obsahu DON v zrně (rezistence k akumulaci mykotoxinů). V tabulce je dále uvedeno mnohonásobné porovnání a rozdělení do homogenních skupin pro obsah DON a symptomatické hodnocení (byla použita stupnice ÚKZÚZ, 9 < 5% napadení, 1 > 95% napadení). Průměrný obsah DON v zrně pro celý soubor hodnocených odrůd je 50,3 mg/kg.

Nejnižší obsah DON v zrně byl zjištěn u odrůdy u mírně rezistentní kontroly, kterou je odrůda Bakfís (10,8 mg/kg). Nejvíce DON bylo detekováno u odrůdy RGT Cesario (78,2 mg/kg) a Annie (87 mg/kg). Příznaky infekce u odrůd Bernstein, Biscay, Pankartz a Viky jsou znázorněné na obrázku č. 5.

Rozdělení odrůd do skupin podle akumulace DON:

- 1) Nízká akumulace DON byla zjištěna u odrůdy Bakfís.
- 2) Skupina 36 odrůd s obsahem DON v rozpětí od 15,4 mg/kg do 77,0 mg/kg, které se od sebe statisticky významně nelišily.
- 3) Nejvyšší akumulace DON byla zjištěna u odrůdy RGT Cesario (78,2 mg/kg) a Annie (87 mg/kg).

Tabulka č. 4: Symptomatické hodnocení a obsah DON u vzorků pšenice seté (*Triticum aestivum*) po umělé inokulaci *F. culmorum*, Praha – Ruzyně 2016-18. Hodnoty označené ve sloupcích stejnými písmeny nejsou statisticky odlišné (LSD, $P < 0,05$).

Odrůda	SH (9-1)	Obsah DON (mg/kg)	
BAKFIS (MÍRNĚ REZISTENTNÍ KONTROLA)	5,0	10,8	a
VIKY	5,6	15,4	ab
CECILIUS	5,2	28,1	ab
TURANDOT	4,8	29,0	ab
DAGMAR	5,0	29,0	ab
GENIUS	3,4	30,9	ab
HYFI	4,9	31,4	ab
ZEPPELIN	4,9	36,6	ab
GAUDIO	4,2	38,0	ab
BERNSTEIN	5,2	38,2	ab
JOHNSON	3,6	38,3	ab
STEFFI	5,3	41,0	ab
BOHEMIA	4,3	41,9	ab
JULIE	4,5	42,2	ab
GORDIAN	3,7	43,3	ab
LG IMPOSANTO	4,0	45,5	ab
ELLY	3,6	45,5	ab
FAKIR	4,0	46,3	ab
KWS SILVERSTONE	4,1	47,6	ab
ALOMAR	2,8	49,3	ab
SULTAN	3,2	49,7	ab
VANESSA	3,4	52,0	ab
FAUNUS	3,9	52,2	ab
BUTTERFLY	3,2	53,8	ab
BALITUS	5,0	54,6	ab
PANKRATZ	2,8	55,8	ab
PATRAS	4,0	58,1	ab
ATUAN	3,3	58,3	ab
FRISKY	3,0	61,3	ab
LG ORLICE	3,3	62,2	ab
HYKING	2,1	62,9	ab
SHERIFF	3,2	63,7	ab
RGT SACRAMENTO	2,7	66,1	ab
PROTEUS	3,1	68,2	ab
FUTURUM	3,0	70,7	ab
RIVERO	3,0	73,1	ab
BISCAY – NÁCHYLNÁ KONTROLA	2,4	77,0	ab
RGT CESARIO	3,6	78,2	b
ANNIE	3,2	87,0	b
2016	3,8	64,2	a
2017	5,1	13,9	b
2018	2,6	69,8	b

Hodnocení odrůdové rezistence

Odrůdy pšenice špaldy byly analyzovány z let 2016 – 2018. Výsledky hodnocení rezistence odrůd pšenice špaldy jsou zaznamenány v tabulce 5a a 5b, ve které jsou odrůdy seřazeny podle průměrného obsahu DON rezistence k akumulaci mykotoxinů. V tabulce je dále uvedeno mnohonásobné porovnání a rozdělení do homogenních skupin pro obsah DON a symptomatické hodnocení (byla použita stupnice ÚKZÚZ, 9 < 5% napadení, 1 > 95% napadení). Nejvyšší obsah DON v znu byl dosažen v roce 2018 (51,64 mg/kg). Průměrný obsah DON v znu pro celý soubor hodnocených odrůd je 27,9 mg/kg. Nejnižší obsah DON byl analyzován u odrůdy Ebners Rotkorn (3,1 mg/kg). Nejvyšší obsah DON byl analyzován u odrůdy Schnottwiler Weisskorn 35 (97,0 mg/kg). Příznaky infekce u odrůd Alkor, Fugger Babenh Zuchtveesen a Badenkrone jsou znázorněné na obrázku č. 6.

Rozdělení odrůd do skupin podle akumulace DON:

- 1) Skupina 25 odrůd s nízkou akumulací DON v rozmezí od 3,1 mg/kg (Ebners Rotkorn) až 16,4 mg/kg (Samir). Tyto odrůdy jsou zařazeny do homogenní skupiny a.
- 2) Skupina odrůd se středním obsahem DON v rozpětí od 16,7 mg/kg (Holstenkorn) do 71,6 mg/kg (Thuerig Rotkorn TH4) – homogenní skupina ab.
- 3) Nejvyšší akumulace DON byla zjištěna u odrůdy Schnottwiler Weisskorn 35 (97,0 mg/kg). Podle statistického zpracování se významně odlišuje od materiálů zařazených do homogenní skupiny a.

Ochranný vliv obalů zrna

U analyzovaného souboru odrůd pšenice špaldy se projevil ochranný vliv pluchy, která zabraňuje prorůstání mycelia do zrna. V obalech špaldy byl na základě dvouletého šetření zjištěn poměrně vysoký průměrný obsah DON (82,9 mg/kg) v porovnání s průměrným obsahem DON v znu (27,1 mg/kg). Na základě dosažených výsledků lze potvrdit ochranný efekt pluchy, který napomáhá k nízké akumulaci mykotoxinů v znu špaldy. Porovnání obsahu DON (mg/kg) v znu a obalech pšenice špaldy (*Triticum spelta*) je znázorněno v grafu č. 1.

Tabulka č. 5 a: Symptomatické hodnocení a obsah DON u vzorků pšenice špaldy (*Triticum spelta*) 1 – 40 po umělé inokulaci *F. culmorum*, Praha – Ruzyně 2016-18. Hodnoty označené ve sloupcích stejnými písmeny nejsou statisticky odlišné (LSD, $P < 0,05$).

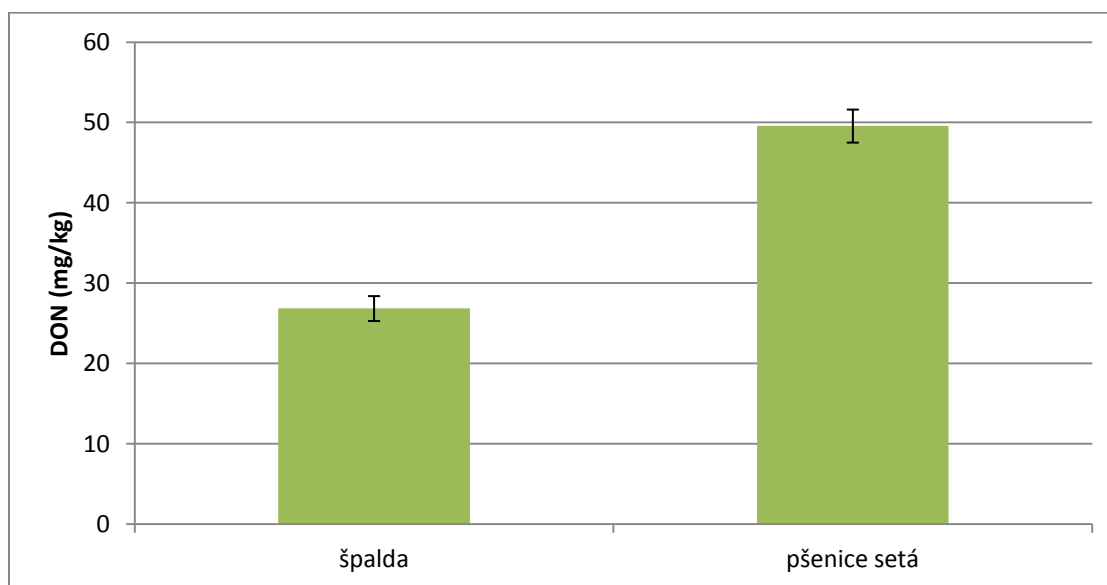
Odrůda	SH (9-1)	Obsah DON (mg/kg)	
EBNERS ROTKORN	6,7	3,1	a
FARNSBURG ROTKORN FB6	5,9	5,3	a
LW 13 NUERTINGEN	6,8	6,4	a
LONIGO	5,2	7,7	a
FUGGER BABENH ZUCHTVEESEN	6,2	7,8	a
GUGG 11A	5,7	8,1	a
GUGG 4E	6,3	9,1	a
GUGG 9F	6,1	10,6	a
GUGG 5A	5,1	10,8	a
BADENGOLD	5,1	11,1	a
LIESTAL ROTKORN L11	5,1	11,3	a
BLACK FOREST	6,1	11,5	a
LW 12 NUERTINGEN	5,4	11,6	a
OSTRO	5,8	11,6	a
TOESS 6D	6,3	11,7	a
LANTVETE FRAN GOTLAND	4,9	11,8	a
ROTER SCHLEGEL DINKEL	5,3	12,0	a
OEKO 10	6,2	13,0	a
BURGDORF WEISSKORN BGD1	5,9	13,4	a
OBERKULMER	5,6	13,6	a
T. SP RUZYNE SVTLA	5,8	14,4	a
ROTTWEILER DINKEL ST.6	5,1	14,5	a
ROTTWEILER FRÜH KORN	5,4	14,7	a
FRANCKENKORN	4,8	14,9	a
SOFIA 1	6,6	15,1	a
ZÜRCHER OBERLÄNDER ROTKORN	4,3	15,9	a
SAMIR	5,7	16,4	a
HOLSTENKORN	5,4	16,7	ab
SALEZ	5,7	17,7	ab
TAURO	4,5	18,5	ab
GUGG 4H	5,8	18,6	ab
MURI ROTKORN	6,7	18,7	ab
STRICKHOF	5,5	18,8	ab
FRIENISBERG WEISSKORN FBG49	5,2	20,8	ab
BURGHOF	5,1	21,1	ab
H57-7	5,2	21,6	ab
ALBIN	5,3	21,8	ab
TSP KROMERIZ	5,2	21,9	ab
HUESLERS-NIEDERWILL 19	4,3	22,5	ab
RINIKER WEISSKORN	5,8	23,0	ab

Tabulka č. 5 b: Symptomatické hodnocení a obsah DON u vzorků pšenice špaldy (*Triticum spelta*) 41 – 80 po umělé inokulaci *F. culmorum*, Praha – Ruzyně 2016-18. Hodnoty označené ve sloupcích stejnými písmeny nejsou statisticky odlišné (LSD, $P < 0,05$).

Odrůda	SH	Obsah DON (mg/kg)	
CERALIO	5,9	23,1	ab
ROUQUIN	4,6	25,2	ab
POEME	4,8	25,6	ab
RUBIOTA	4,8	26,5	ab
ROSÉN SEL	5,2	27,9	ab
ELSENEGGER	5,4	28,7	ab
HERCULE	5,2	28,7	ab
ZOLLERNSPELZ	3,8	28,9	ab
WILLISAUER WEISSKORN WIL17	4,3	29,8	ab
COSMOS	4,6	31,7	ab
GUGG 6A	4,9	32,2	ab
GUGG 2F	5,7	32,4	ab
WAGGERSHAUSER WEISSER KOLBEN	4,7	32,6	ab
NEUEGGER WEISSKORB NGG42	4,6	33,1	ab
ALTGOLD	4,8	33,6	ab
SPY	4,7	34,3	ab
T. SPELTA ALBUM	5,9	34,3	ab
VON RECHBERGS FRÜHER WINTERDINKEL	4,4	35,2	ab
FILDERSTOLZ	3,7	36,3	ab
V. RECHBERG BRAUNER WINTER SPELZ	5,8	38,2	ab
SCHAFFISHEIM WEISSKORN SCH6	5,2	38,2	ab
GUGG 9A	5,1	38,3	ab
GUGG 2G	5,2	38,6	ab
GUGG 5C	4,8	39,1	ab
TOESS 5B	5,2	39,3	ab
WINIGER-EGG WEISSKORN W19	4,4	39,9	ab
VÖGELERS	4,9	40,0	ab
BADENSTERN	4,9	40,4	ab
SCHWABENSPELZ	4,3	40,5	ab
EPANIS	4,2	40,7	ab
ALKOR	4,8	41,9	ab
TITAN	3,9	42,1	ab
ZUZGER	4,5	45,8	ab
RUEFENACHTER WEISSKORN RF6	4,8	47,0	ab
ZEINERS WEISSER SCHLEGELDINKEL	4,8	50,3	ab
GOLDIR	4,6	55,7	ab
BADENKRONE	4,2	56,8	ab
VORENWALDER WEISSKORN VR15	4,1	60,4	ab
THUERIG ROT KORN TH4	4,2	71,6	ab
SCHNOTTWILER WEISSKORN 35	4,8	97,0	b
2016	5,7	25,20	b
2017	6,3	3,40	a
2018	3,5	51,64	c

Tabulka č. 8 znázorňuje celkové porovnání hodnocení odrůdové rezistence u odrůd pšenice seté a pšenice špalda. Názornější porovnání udává graf č. 2. Podle získaných dat lze říci, že pšenice špalda je odolnější vůči akumulaci mykotoxinů v zrně. Nelze však říci, že pšenice špalda je naprosto bezpečná. Mezi odrůdami pšenice špaldy byly významné rozdíly v akumulaci DON v zrně. Např. obsah DON v zrně odrůdy Ebners Rotkorn byl 3,07 mg/kg a odrůda Schnottwiler Weisskorn 35 dosahovala obsahu DON v zrně 95,01 mg/kg.

Odrůdy pšenice špaldy, které akumulovaly vysoké množství DON v zrně, pravděpodobně nejsou čisté odrůdy špaldy, ale jde o křížence pšenice seté a pšenice špaldy. Významný vliv na nízkou akumulaci DON v zrně pšenice špaldy pravděpodobně mají plevy, které chrání zrně před průchodem mycelia do zrna. Porovnání obsahu DON v zrně a plevách znázorňuje graf č. 1.



Graf č. 1: Porovnání průměrného obsahu DON v zrně po umělé inokulaci *Fusarium culmorum* u pšenice špaldy a pšenice seté

Tabulka č. 6 a: Porovnání odrůd pšenice seté a pšenice špaldy pro obsah DON po umělé inokulaci *F. culmorum*.
Hodnoty označené ve sloupcích stejnými písmeny nejsou statisticky odlišné.

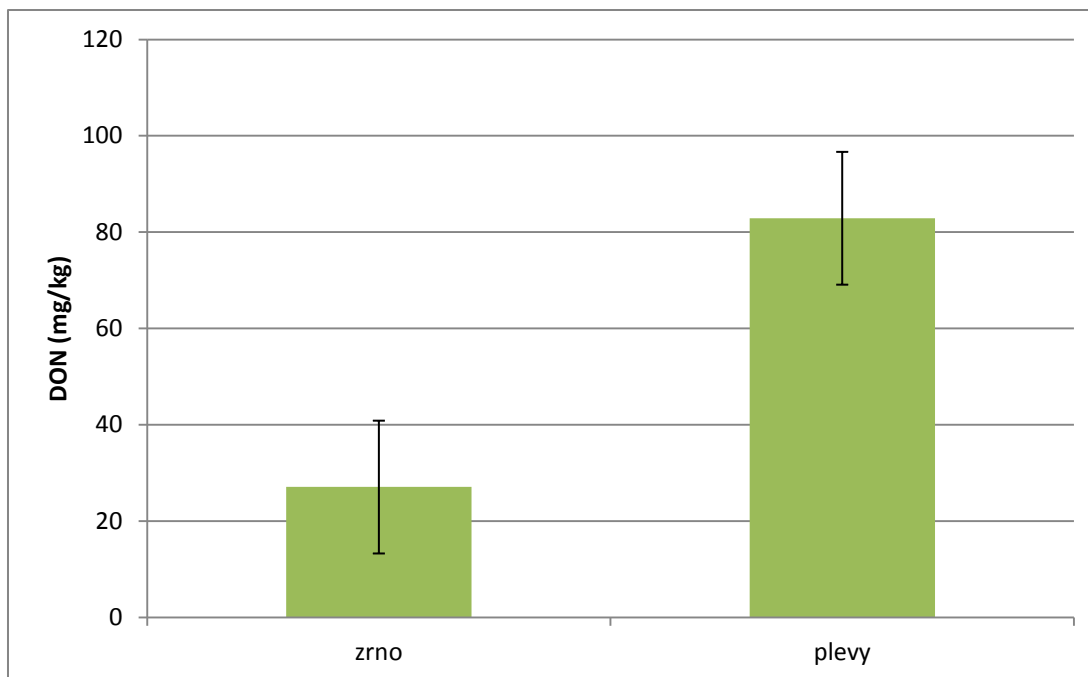
Typ pšenice	Odrůda	DON (mg/kg)	
ŠPALDA	EBNERS ROTKORN	3,07	a
ŠPALDA	FARNSBURG ROTKORN FB6	5,27	a
ŠPALDA	LW 13 NUERTINGEN	6,39	ab
ŠPALDA	LONIGO	7,71	ab
ŠPALDA	FUGGER BABENH ZUCHTVEESEN	7,75	ab
ŠPALDA	GUGG 11A	8,05	ab
ŠPALDA	GUGG 4E	9,05	ab
ŠPALDA	GUGG 9F	10,58	ab
ŠPALDA	GUGG 5A	10,77	ab
SETÁ	BAKFIS	10,78	ab
ŠPALDA	BADENGOLD	11,15	ab
ŠPALDA	LIESTAL ROTKORN L11	11,32	ab
ŠPALDA	BLACK FOREST	11,52	ab
ŠPALDA	LW 12 NUERTINGEN	11,56	ab
ŠPALDA	OSTRO	11,60	ab
ŠPALDA	TOESS 6D	11,70	ab
ŠPALDA	LANTVETE FRAN GOTLAND	11,82	ab
ŠPALDA	ROTER SCHLEGEL DINKEL	12,03	ab
ŠPALDA	OEKO 10	12,98	ab
ŠPALDA	BURGDORF WEISSKORN BGD1	13,36	ab
ŠPALDA	OBERKULMER	13,63	ab
ŠPALDA	T. SP RUZYNE SVTLA	14,42	ab
ŠPALDA	ROTTWEILER DINKEL ST. 6	14,49	ab
ŠPALDA	ROTTWEILER FRÜH KORN	14,73	ab
ŠPALDA	FRANCKENKORN	14,90	ab
ŠPALDA	SOFIA 1	15,13	ab
SETÁ	VIKY	15,39	abc
ŠPALDA	ZÜRCHER OBERLÄNDER ROTKORN	15,88	abc
ŠPALDA	SAMIR	16,39	abc
ŠPALDA	HOLSTENKORN	16,70	abc
ŠPALDA	SALEZ	17,65	abc
ŠPALDA	TAURO	18,48	abc
ŠPALDA	GUGG 4H	18,56	abc
ŠPALDA	MURI ROTKORN	18,68	abc
ŠPALDA	STRICKHOF	18,77	abc
ŠPALDA	FRIENISBERG WEISSKORN FBG49	20,77	abc
ŠPALDA	BURGHOF	21,10	abc
ŠPALDA	H57-7	21,62	abc
ŠPALDA	ALBIN	21,79	abc
ŠPALDA	TSP KROMERIZ	21,90	abc
ŠPALDA	HUESLERS-NIEDERWILL 19	22,52	abc
ŠPALDA	RINIKER WEISSKORN	22,99	abc
ŠPALDA	CERALIO	23,14	abc
ŠPALDA	ROUQUIN	25,20	abc

Tabulka č. 6 b: Porovnání odrůd pšenice seté a pšenice špaldy pro obsah DON po umělé inokulaci *F. culmorum*. Hodnoty označené ve sloupcích stejnými písmeny nejsou statisticky odlišné.

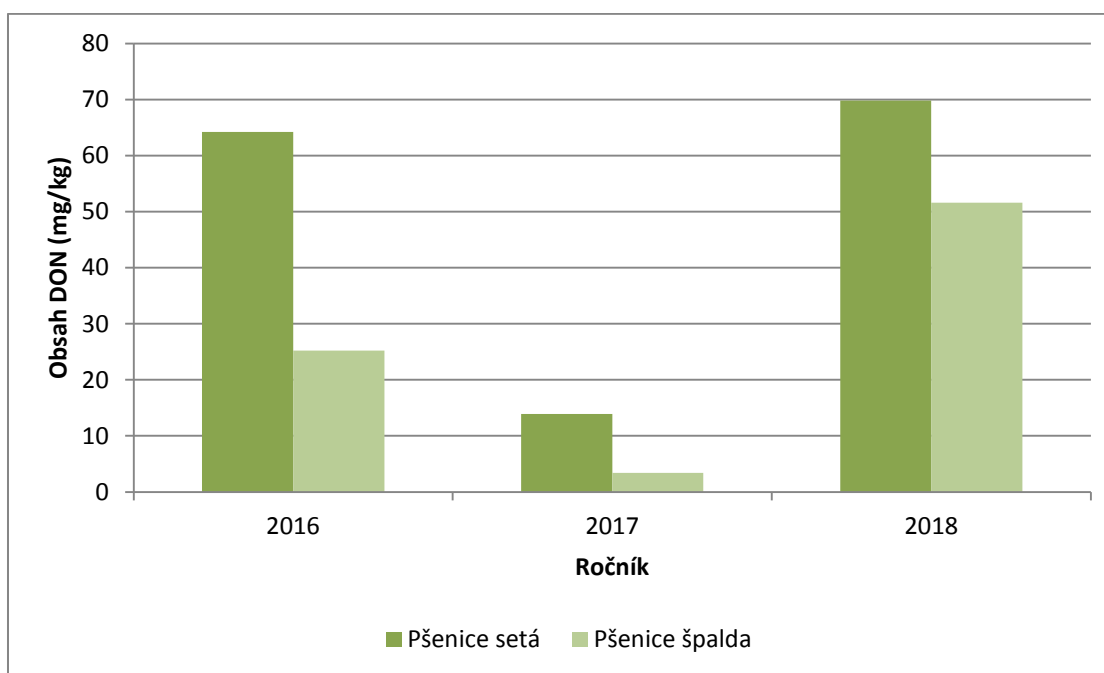
Typ pšenice	Odrůda	DON (mg/kg)	
ŠPALDA	POEME	25,55	abc
ŠPALDA	RUBIOTA	26,45	abc
ŠPALDA	ROSÉN SEL	27,91	abc
SETÁ	CECILIUS	28,06	abc
ŠPALDA	ELSENEGGER	28,66	abc
ŠPALDA	HERCULE	28,66	abc
ŠPALDA	ZOLLERNSPELZ	28,98	abc
SETÁ	TURANDOT	28,99	abc
ŠPALDA	WILLISAUER WEISSKORN WIL17	29,79	abc
SETÁ	DAGMAR	29,97	abc
SETÁ	GENIUS	30,99	abc
SETÁ	HYFI	31,36	abc
ŠPALDA	COSMOS	31,74	abc
ŠPALDA	GUGG 6A	32,16	abc
ŠPALDA	GUGG 2F	32,41	abc
ŠPALDA	WAGGERSHAUSER WEISSER KOLBEN	32,64	abc
ŠPALDA	NEUEGGER WEISSKORB NGG42	33,09	abc
ŠPALDA	ALTGOLD	33,57	abc
ŠPALDA	SPY	34,33	abc
ŠPALDA	T. SPELTA ALBUM	34,34	abc
ŠPALDA	VON RECHBERGS FRÜHER WINTERDINKEL	35,23	abc
ŠPALDA	FILDERSTOLZ	36,32	abc
SETÁ	ZEPPELIN	36,64	abc
SETÁ	GAUDIO	38,03	abc
SETÁ	BERNSTEIN	38,18	abc
ŠPALDA	V. RECHBERG BRAUNER WINTER SPELZ	38,22	abc
ŠPALDA	SCHAFFISHEIM WEISSKORN SCH6	38,22	abc
ŠPALDA	GUGG 9A	38,30	abc
SETÁ	JOHNSON	38,35	abc
ŠPALDA	GUGG 2G	38,58	abc
ŠPALDA	GUGG 5C	39,12	abc
ŠPALDA	TOESS 5B	39,26	abc
ŠPALDA	WINIGER-EGG WEISSKORN W19	39,91	abc
ŠPALDA	VÖGELERS	40,00	abc
ŠPALDA	BADENSTERN	40,41	abc
ŠPALDA	SCHWABENSPELZ	40,49	abc
ŠPALDA	EPANIS	40,75	abc
SETÁ	STEFFI	40,98	abc
ŠPALDA	ALKOR	41,90	abc
SETÁ	BOHEMIA	41,92	abc
ŠPALDA	TITAN	42,06	abc
SETÁ	JULIE	42,23	abc
SETÁ	GORDIAN	43,25	abc
SETÁ	LG IMPOSANTO	45,48	abc

Tabulka č. 8 c: Porovnání odrůd pšenice seté a pšenice špaldy pro obsah DON po umělé infekci *F. culmorum*.
Hodnoty označené ve sloupcích stejnými písmeny nejsou statisticky odlišné.

Typ pšenice	Odrůda	DON (mg/kg)	
SETÁ	ELLY	45,52	abc
ŠPALDA	ZUZGER	45,82	abc
SETÁ	FAKIR	46,26	abc
ŠPALDA	RUEFENACHTER WEISSKORN RF6	46,98	abc
SETÁ	SILVESTRONE	47,61	abc
SETÁ	ALOMAR	49,34	abc
SETÁ	SULTAN	49,69	abc
ŠPALDA	ZEINERS WEISSER SCHLEGELDINKEL	50,36	abc
SETÁ	VANESSA	51,98	abc
SETÁ	FAUNUS	52,26	abc
SETÁ	BUTTERFLY	53,84	abc
SETÁ	BALITUS	54,56	abc
SETÁ	GOLDIR	55,66	abc
SETÁ	PANKARTZ	55,75	abc
ŠPALDA	BADENKRONE	56,83	abc
SETÁ	PATRAS	58,13	abc
SETÁ	ATUAN	58,29	abc
ŠPALDA	VORENWALDER WEISSKORN VR15	60,40	abc
SETÁ	FRISKY	61,33	abc
SETÁ	LG ORLICE	62,17	abc
SETÁ	HYKING	62,86	abc
SETÁ	SHERIFF	63,65	abc
SETÁ	RGT SACRAMENTO	66,11	abc
SETÁ	PROTEUS	68,19	abc
SETÁ	FUTURUM	70,75	abc
ŠPALDA	THUERIG ROT KORN TH4	71,62	abc
SETÁ	RIVERO	73,15	abc
SETÁ	BISCAY	77,00	abc
SETÁ	CESARIO	78,23	abc
SETÁ	ANNIE	86,99	bc
ŠPALDA	SCHNOTTWILER WEISSKORN 35	97,01	c
2016		6,80	a
2017		39,87	b
2018		55,68	c



Graf č. 2: Porovnání průměrného obsahu DON v obalech a zrnech pšenice špalda po umělé inokulaci *Fusarium culmorum* (Praha Ruzyně 2017 a 2018)



Graf č. 3: Vliv ročníku na průměrný obsah DON v zrně

Vliv ročníku na průměrný obsah DON v zrně je znázorněn v grafu č. 3. Nejmenší množství DON v zrně bylo akumulováno v roce 2017. Zároveň byl nejmenší rozdíl mezi obsahem DON v zrně pšenice špaldy (3,4 mg/kg) a pšenice seté (13,9 mg/kg). Nízký obsah DON v zrně byl ovlivněn teplotou a nízkým množstvím srážek v období od května do července, což jsou nepříznivé podmínky pro šíření patogenu a tvorbu mykotoxinů. Nejvyšší obsah DON byl akumulován v roce 2018. V zrně pšenice seté bylo analyzováno v průměru 69,8 mg/kg DON, v zrně pšenice špaldy 51,6 mg/kg. V roce 2018 byly příznivé podmínky pro rozvoj infekce. Z tabulky č. 7 vyplývá, že u obou sledovaných znaků se projevil významný vliv ročníku (a to i přes použití závlahy na podporu rozvoje infekce) a genotypu. Významná byla i interakce genotyp x ročník. To znamená, že v podmínkách některých ročníků se nemusí odolnost či náchylnost genotypu dostatečně projevit.

Tabulka č. 7: Průměrné čtverce analýzy rozptylu pro sledované znaky obsah DON (mg/kg) a symptomatického hodnocení. Hodnocení odrůd pšenice seté a pšenice špaldy (2016 – 2018)

Stanovení DON

Zdroj variability	Součet čtverců	St. vol.	Průměrný čtverec	Stat F	Pravd
Hlavní efekty	839503,546	120	6995,863	8,513	0,0000
Genotyp	403614,578	118	3420,463	4,162	0,0000
Ročník	436030,038	2	218015,019	265,287	0,0000
Interakce 2. řádu	422958,645	235	1799,824	2,190	0,0000
Genotyp x Ročník	422958,645	235	1799,824	2,190	0,0000
Vysvětleno	1262462,191	355	3556,232	4,327	0,0000
Chyba	576086,518	701	821,807		
Celkem	1838548,709	1056	1741,050		

Symptomatické hodnocení

Zdroj variability	Součet čtverců	St. vol.	Průměrný čtverec	Stat F	Pravd
Hlavní efekty	2371,231	120	19,760	16,958	0,0000
Genotyp	1017,591	118	8,624	7,401	0,0000
Ročník	1349,923	2	674,961	579,241	0,0000
Interakce 2. řádu	545,801	235	2,323	1,993	0,0000
Genotyp x Ročník	545,801	235	2,323	1,993	0,0000
Vysvětleno	2917,032	355	8,217	7,052	0,0000
Chyba	823,833	707	1,165		
Celkem	3740,865	1062	3,522		

Pro zjištění vztahů mezi sledovanými znaky (symptomatické hodnocení a obsah DON v zrně) byla provedena korelační analýza. Z výsledků je zřejmý statisticky průkazný těsný vztah mezi symptomatickým hodnocením a obsahem DON. Nejtěsnější vztah (-0,7212) byl zjištěn při hodnocení celého souboru sledovaných genotypů. Nejméně těsný, avšak také statisticky významný vztah byl zjištěn mezi těmito znaky u pšenice špaldy, kde je vizuální symptomatické hodnocení obtížnější vzhledem k zabarvování obalů (plev) v průběhu dozrávání zrna. Dále byla prokázána statisticky významná korelace mezi výškou rostliny a symptomatickým hodnocením, stejně jako mezi výškou rostliny a obsahem DON. Nejméně těsná byla tato korelace u obou znaků pro pšenici špaldu. Vliv hustoty klasu na rezistenci byl sledován pouze u pšenice špaldy a zde opět statisticky významná korelace pro symptomatické hodnocení i pro obsah DON. Z toho lze učinit závěry, že nižší napadení i akumulace DON se častěji vyskytuje u vysokých genotypů. Podobně nízká intenzita napadení i obsah DON v zrně jsou spojeny s řidším klasem. Naopak hustý klas napomáhá šíření choroby.

Tabulka č. 8: Analýzy korelací mezi hodnocenými znaky symptomatické hodnocení a obsah DON ($P < 0,05$)

Korelované znaky	Korelační koeficient	Pravděpodobnost
SH / DON		
<i>T. aestivum</i> + <i>T. spelta</i>	-0,7212	0,0000
<i>T. aestivum</i>	-0,6929	0,0000
<i>T. spelta</i>	-0,6534	0,0000
SH / výška rostliny		
<i>T. aestivum</i> + <i>T.spelta</i>	0,3811	0,0000
<i>T. aestivum</i>	0,3049	0,0000
<i>T. spelta</i>	0,1949	0,0000
Obsah DON/výška		
<i>T. aestivum</i> + <i>T.spelta</i>	-0,3625	0,0000
<i>T. aestivum</i>	-0,1935	0,0003
<i>T. spelta</i>	-0,1241	0,0009
SH / hustota klasu		
<i>T. spelta</i>	-0,1532	0,0000
Obsah DON / hustota klasu		
<i>T. spelta</i>	0,1535	0,0000



Bernstein



Biscay



Pankartz



Viky

Obrázek č. 5: Klasy pšenice seté po umělé inokulaci *F. culmorum*

Foto Šárka Bártová



Alkor



Fugger Babenh Zuchtveesen



Badenkronne

Obrázek č. 6: Klasy pšenice špaldy po umělé infekci *F. culmorum*

Foto Šárka Bártová

6. Diskuse

Shaafsma a Hooker (2007) zjistili, že obsahu DON v zrně je ovlivňován podmínkami prostředí ze 48 %, odrůdou z 27 % a předplodinou ze 14 – 28 %.

Zásadní je teplota a srážky v době kvetení. Nejvyšší riziko infekce je v případě, kdy jsou klasy v době kvetení stále vlhké z důvodu častých srážek a teplota se pohybuje v rozmezí 18 – 24°C. Významný efekt ročníku na obsah mykotoxinů v zrně obilovin byl zjištěn v řadě studií (Šíp et al. 2007; Matušinský et al. 2016). V uskutečněné studii se efekt ročníku projevil i přes použití závlahy. Nejnižší obsah DON byl zjištěn ve vzorcích z roku 2017, který byl nepříznivý pro rozvoj infekce (teplé a suché počasí). Nejpříznivější podmínky pro rozvoj infekce byly v roce 2018, kdy se v zrně pšenice seté i pšenice špaldy vytvořilo největší množství mykotoxinů. Rok 2018 byl teplejší a bylo více srážek. Vliv ročníku v jednotlivých letech pokusu je uveden v grafu č. 3.

Dobrý ochranný vliv mohou mít i mechanismy pasivní rezistence. Analýzou byla prokázána statisticky významná korelace mezi výškou rostliny a symptomatickým hodnocením, stejně jako mezi výškou rostliny a obsahem DON. Významný vztah platí také mezi hustotou klasu a symptomatickým hodnocením i obsahem DON. Z toho vyplývá, že u vysokých genotypů dochází k nižšímu napadení i akumulaci DON a podobně nízká intenzita napadení i obsah DON v zrně souvisí s řídkým klasem. V hustém klasu se drží vlhkost a vytváří se tak vhodné podmínky pro šíření patogenu a tvorbu mykotoxinů. Jedná se především o výšku rostliny (Draeger et al. 2007; Mesterházy 1995; Paillard et al. 2004), typ kvetení a uvolnění prašníků (Kubo et al. 2013; Skinnes et al. 2010), hustotu (kompaktnost) klasu (Schmolke et al. 2005) a uzavřenost obilí v pluchách i v době zralosti (pluchaté pšenice). Z výsledků korelační analýzy vyplývá, že u vysokých rostlin s řídkým klasem docházelo k nižšímu napadení a akumulaci DON. U rostlin s delším stéblem dochází ke snížení vlhkosti v klasu a vytvářejí se tak méně příznivé podmínky pro rozvoj patogenu i k akumulaci mykotoxinů. Avšak nevýhodou vysokých rostlin je, že jsou náchylné k poléhání. Při poléhání porostu se zvyšuje riziko rozvoje choroby, protože se v porostu udržuje vlhkost a to napomáhá k šíření vláknitých hub.

Podle získaných dat lze říci, že pšenice špalda je odolnější vůči akumulaci mykotoxinů v zrně. Nelze však říci, že pšenice špalda by byla v tomto ohledu naprosto bezpečná. Mezi odrůdami pšenice špaldy byly významné rozdíly v akumulaci DON v zrně (3 – 97 mg/kg). Navíc i mezi odrůdami pšenice seté se vyskytovaly velmi dobré odrůdy (s vyšší úrovní rezistence).

Na velké rozdíly v rezistenci je třeba brát zřetel při výběru vhodné odrůdy zvláště v oblastech s opakovaným výskytem klasových fuzarióz, po rizikové předplodině, nebo při použití minimalizačních opatření (Chrpová et al. 2014). Nadlimitní hodnoty DON byly zjištěny na východě Moravy, v jihozápadních Čechách a na severovýchodě Čech (Bártová et al. 2010). Dalším výzkumem, který proběhl v letech 2014 – 2017, bylo zjištěno, že nejvíce napadených vzorků pocházelo z jihozápadních Čech (Plzeňsko, Domažlicko) a ze severní Moravy (Jesenicko, Opavsko). Méně ohroženou se dlouhodobě jeví oblast Českomoravské Vysočiny (Sumíková et al. 2017 a, b).

Pšenice špalda, stejně jako pšenice jednozrnka a dvouzrnka, patří do skupiny pluchatých pšenic (Konvalina 2013). Významný vliv na obsah DON v zrně mají pluchy, které se odstraňují až před zpracováním. Analýzou bylo zjištěno, že v plevách pšenice špaldy se nacházelo přibližně trojnásobné množství DON (82,9 mg/kg) než v zrně (27,1 mg/kg). Plevy chrání zrně před prorůstáním mycelia do zrna. Možný ochranný charakter obalů zrna u špaldy zjistili ve své studii i Mankevičienė et al. (2014). Suchý et al. (2018) uvádějí, že loupání zrna je velmi účinné z hlediska snížení obsahu mykotoxinů produkovaných houbami rodu *Fusarium spp.* a *Alternaria spp.* v zrně. Pluchy také dobře chrání zrně při skladování.

Významný vliv na akumulaci DON má také odrůda. Odrůda pšenice špaldy Ebners Rotkorn prokázala nejnižší akumulaci DON (3,1 mg/kg). Je nejrozšířenější odrůdou v Rakousku. Největší akumulace DON byla zjištěna u odrůdy pšenice špaldy Schnottwiler Weisskorn 35, která dosahovala obsahu DON v zrně 95,01 mg/kg. Odrůdou pšenice seté s nejnižší akumulací DON v zrně byla mírně rezistentní kontrola Bakfis. Nejvyšší akumulace DON v zrně byla prokázána u odrůd RTG Cesario a Annie.

7. Závěr

Byla potvrzena hypotéza, že pšenice špalda (*Triticum spelta*) je menším rizikem při napadení klasu houbami rodu *Fusarium* a akumulaci mykotoxinů. Nelze však říci, že pšenice špalda je naprosto bezpečná. Mezi odrůdami pšenice špaldy byly významné rozdíly v akumulaci DON. U pšenice seté se navíc vyskytovaly velmi dobré odrůdy (s vyšší úrovní rezistence).

Rozvoj infekce a akumulaci mykotoxinů v zrně ovlivňuje mnoho faktorů. Nejvýznamnějšími faktory je průběh počasí v daném roce (teplota a množství srážek), odrůdová rezistence a tzv. mechanismy pasivní rezistence (výška rostliny, hustota klasu). Významný vliv mají u pšenice špaldy také pluchy, které se odstraňují až před zpracováním a chrání zrna před napadením.

Pšenice špalda je vhodná pro pěstování v ekologickém zemědělství. Výhodou je především omezení použití hnojiv a fungicidních přípravků. Má nižší nároky na prostředí a mohutnou kořenovou soustavu, která umožňuje získat živiny z hlubších vrstev půdy. Navíc vzhledem k vyšší náchylnosti k poléhání je citlivá na přehnojení dusíkem. Má vyšší rezistenci k napadení houbami rodu *Fusarium*, proto je možné ji pěstovat v oblastech s vyšším výskytem fuzárií.

8. Zdroje

- Aulický R, Kolář V, Plachý J, Stejskal V. 2017. Řízené atmosféry pro skladování komodit. *Úroda*. **11**: 32 – 33
- Bai GH, Plattner R, Desjardins A, Kolb F, Mcintosh RA. 2001. Resistance to Fusarium head blight and deoxynivalenol accumulation in wheat. *Plant Breed.*, 120 pp. 1-6
- Bártová Š, Šíp V, Chrpová J, Štočková L. 2010. Klasové fuzariózy pšenice a predikce rizika napadení. *Úroda* **12**: 8 – 10.
- Blandino M, Haidukowsky M, Pascale M. 2012. Integrated strategies for the control of Fusarium head blight and deoxynivalenol contamination in winter wheat. *Field crops research* **133**: 139 – 149.
- Bolechová M, Kosubová P, Hřibová Š, Mehybová Z, Berka M, Pospíchalová M. 2014. Ekologické zemědělství a kontaminace mykotoxiny. *Mykotoxiny 2014*. Praha 23. – 24. 10.2014: 11 – 14.
- Bulková V, 2011. Rostlinné potraviny. Národní centrum ošetřování a nelékařských zdravotnických oborů. Brno.
- Bursová Š, Necidová L, 2014. Imunologické metody a jejich využití v mikrobiologii potravin. *Veterinářství*. **11**: 852 – 856
- Capouchová I, Konvalina P, Škeříková A, Mičák L. 2014. Ozimá špalda – nenáročná pšenice s vysokou jakostí. *Úroda* **10**: 15 – 17.
- Creppy EE. 2002: Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters* **1**: 19-28.
- Cuhra P. 2018. Kontrola mykotoxinů v potravinách prováděná SZPI. *Mykotoxiny 2018*. Praha, 13. – 14.9.2018: 9-10.
- Dill-Macky R. 2008. Cultural control practices for fusarium head blight: Problems and solutions. *Cereal Research Communications* **36 B**: 653-657.
- Draeger R, Gosman N, Steed A, Chandler E, Thomsett M, Srinivasachari, Schondelmaier J, Buerstmayr H, Lemmens M, Schmolke M, Mesterhazy A, Nicholson P. 2007: Identification of QTLs for resistance to Fusarium head blight, DON accumulation and associated traits in the winter wheat variety Arina. *Theoretical and Applied Genetics* **115**: 617-625.
- Edwards SG. 2004. Influence of agricultural practices on fusarium infection of cereals and subsequent contamination of grain by trichothecene mycotoxins. *Toxicology Letters* **153**: 29–35.

Stejskal V, Frýdová B. 2011: Chemické a biologické kontaminanty v potravinách a zemědělských komoditách: aktuální problémy. Ministerstvo zemědělství České republiky,. Dostupné z: http://www.phytopsanitary.org/seminare/VVF-sbornik-2011_screen.pdf.

Hajšlová J, Zachariášová M, Džuman Z, Zachariášová A, Vepříková Z, Slavíková P, Jirů M, Fenclová M. 2014. Mykotoxiny – nové poznatky v bezpečnosti potravin a potravních doplňků. Mykotoxiny 2014. Praha 23. – 24. 10.2014:47 - 53.

Holzappel J, VOSS H H, Miedaner T, Korzun V, Häberle J, Schweizer G, Mohler V, Zimmermann G, Hartl L. 2008: Inheritance of resistance to *Fusarium* head blight in three European winter wheat populations. *Theoretical and Applied Genetics*, **117**: 1119-1128.

Hosnedl V. 2008. Pšenice - od genomu po rohlík: aktuální poznatky doktorandů získané ve výzkumných laboratořích a na pokusných pozemcích. Kurent. České Budějovice.

Chrpová J, Šíp V, Sýkorová S. 2006. Progression of deoxynivalenol concentrations in spikes and kernels of winter wheat cultivars after inoculation with *Fusarium Culmorum*. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. **4**: 137 – 141.

Chrpová J. 2007. Možnosti snížení rizika napadení obilnin klasovými fuzariózami. Metodika pro praxi. Výzkumný ústav rostlinné výroby. Praha.

Chrpová J, Šíp V, Horčíčka P. 2008. Možnosti snížení rizika napadení ozimé pšenice klasovými fuzariózami. *Úroda*. **4**: 42 – 44.

Chrpová, J, Šíp, V, Štočková, L. 2014. Odolnost pšenice vůči fuzarióze klasu. *Úroda*. **6**: 24 – 28.

Chrpová J, Šíp V, Štěrbová L, Sumíková T, Palicová J. 2015. Metodika hodnocení rezistence pšenice ke klasovým fuzariózám v polních podmínkách. Metodika pro praxi. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha 6 - Ruzyně.

Chrpová J, Šíp V, Sumíková T, Salava J, Palicová J, Štočková L, Hajšlová J. 2016. Occurrence of *Fusarium* species and mycotoxins in wheat grain collected in the Czech Republic. *World Mycotoxin Journal* **9**: 317-327.

Kang Z, Buchenauer H. 2002. Studies on the infection process of *Fusarium culmorum* in wheat spikes: degradation of host cell wall components and localization of trichothecene toxins in infected tissue. *European Journal of Plant Pathology*, **108**: 653–660.

Karlíček R. 2009. Analytická chemie pro farmaceuty. Karolinum. Praha.

Klouda P. 2003. Moderní analytické metody. Pavel Kouča. Ostrava.

Konvalina P. 2013. Pšenice špalda v ekozemědělství. *Zemědělec* **21**: 35.

Kostelanska M, Hajšlová, J, Zachariášová M, Malachová M, Kalachová M, Poustka J, Fiala J, Scott PM, Berthiller F, Krska R. 2009. Occurrence of deoxynivalenol and its major conjugate, deoxynivalenol-3-glicoside, in beer and some brewing intermediates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**: 3187–3194.

Kubo K, Fujita M, Kawada N, Nakajima T, Nakamura K, Maejima H, Ushiyama T, Hatta K, Matsunaka H. 2013. Minor differences in anther extrusion affect resistance to *Fusarium* head blight in wheat. *J. Phytopathol* **161**: 308–314.

Malachová A, Hajšlová J, Ehrenbergerová J, Kostelanská M, Stránská M, Urbanová J, Cerkal J, Šafránková I, Marková J, Vaculová K, Smutná P, Zachariášová M. 2010. Fusariové mykotoxiny v zrna ječmene jarního a jejich přenos do sladu. *Kvasný průmysl*. **3**: 131 – 137.

Malíř F, Ostrý V. 2003: Vlákňité mikromycety (plísně), mykotoxiny a zdraví člověka. 1. vyd. Brno: Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů v Brně.

Mankevičienė A, Jablonskytė-Raščė D, Maikštėnienė S. 2014. Occurrence of mycotoxins in spelt and common wheat grain and their products. *Food Additives & Contaminants: Part A* **1**: 132–138

Matušinsky P, Váňová M, Tvarůžek L, Polišínská I, Janeček M., Smutný V. 2016. Soil management technologies and mycotoxin contamination of wheat and barley grain. *Cereal Research Communications* **2**: 320–329.

Mesterházy A. 1995. Types and components of resistance to *Fusarium* head blight of wheat. *Plant Breed.* **114**: 377–386.

Mesterházy A. 2002: Theory and practice of the breeding for *Fusarium* head blight resistance in wheat. *Journal of Applied Genetics* **43A**: 289–302.

Miraglia M, Marvin H J P, Kleter G A, Battilani P, Brera C, Coni E, Cubadda F, Croci De Santis B, Dekkers S, Filippi L, Hutjes R W A, Noordam M Y, Pasante M, Piva G, Prandiny A, Toti L, Van Den Born G J, Vesperman A. 2009. Climate Change and Food safety: An Emerging Issue with Special Focus on Europe. *Food and Chemical Toxicology* **47**: 1009–2021

Mirocha CJ, Pathre SV, Robison TS. 1981: Comparative metabolism of zearalenone and transmission into bovine milk. *Food and Cosmetic Toxicology* **19**: 25-30.

Nařízení komise (ES) č. 1881/2006 z 19. 12. 2006 v platném znění ES č. 1126/2007)

Nedělník J. 2003. Mykotoxiny v potravinách a krmivech. *Úroda*. **3**: 10 – 12.

Nedělník J, Moravcová H, Hajšlová J, Lancová K, Váňová M, Salava J. 2007. *Fusarium* spp. In wheat grain in the Czech Republic analyzed by PCR method. *Plant Protection Science*. **43**: 135-137.

Nedělník J. 2014. Mykotoxiny v objemných krmivech. Mykotoxiny 2014. Praha 23. – 24. 10.2014: 15 – 19.

Nicholson P, Srinivasachary, Gosman N, Steed A, Chen X. 2008: Role of phytohormone signalling in resistance of wheat to Fusarium head blight. Cereal Research Communications, **36B**: 213-216.

Pazderů K, Vepříková Z, Václavíková M, Capouchová I, Hajšlová J, Konvalina P, Prokinová E, Janovská D, Honsová H. 2013. Diagnostický klíčící test pro stanovení celkové kontaminace zrna obilovin fusakovými mykotoxiny. Praha.

Paillard ST, Schnurbusch R, Tiwari. 2004 QTL analysis of resistance to Fusarium head blight in Swiss winter wheat (*Triticum aestivum* L.). Theoretical and Applied Genetics **109**: 323–332.

Polišenská I. (a) 2009. Klasová fuzária a výskyt mykotoxinů v ozimé pšenici. Farmář **7**: 15.

Polišenská I, Jirsa O. (b) 2009. Kontaminace obilovin fuzáriovými mykotoxiny. Úroda **5**: 18 – 20.

Polišenská I, a kol. 2011. Kontaminace ovsa a ovesných produktů fuzáriovými mykotoxiny. Úroda **2**: 28 – 30.

Polišenská I. 2018. Mykotoxiny v obilovinách a jejich dopad na kvalitu potravin a krmiv. Agromanuál **7**: 32-34.

Prohasková Z, Štočková L, Chrpová J, Dvořáček V, Stehno Z. 2010. Nedestruktivní analýza obsahu deoxynivalenolu v zrnech ozimé pšenice metodou FT-NIR spektroskopie. Mykotoxiny Praha, 14.-15.10.2010: 71-77.

Prugar J, et al. 2008. Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s. ve spolupráci s Komisí jakosti rostlinných produktů České akademie zemědělských věd.

Prokinová E, 2011. Fuzarióza klasů ozimé pšenice – význam odrůdy. Agromanuál **5**: 12 – 14.

Riesen T, Winzeler H, Rügger A, Fried P M. 1986. The effect of glumes on fungal infection of germinating seed of spelt (*Triticum spelta* L.) in comparison to wheat (*Triticum aestivum* L.). J Phytopathol **115**:318–324.

Seznam doporučených odrůd Obilniny 2018. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský se sídlem v Brně, Národní odrůdový úřad. Brno.

Sedmíková M, Rajmon R. 2004. Mykotoxiny – rizikový faktor krmiv a potravin. *Krmivářství* **4**: 19 - 21.

Schaafsma AW, Hooker DC. 2007: Climatic models to predict occurrence of *Fusarium* toxins in wheat and maize. *International Journal of Food Microbiology* **119**: 116–125.

Schmolke M. Zimmermann G, Buerstmayr H, Schweizer G, Miedaner T, Korzun V, Ebmeyer E, Hartl L. 2005. Molecular mapping of *Fusarium* head blight resistance in the winter wheat population Dream/Lynx. *Theor. Appl. Genet.* **111**: 747–756.

Skinnes H, Semagn K, Tarkegne Y, Maroy A G, Bjørnstad A. 2010. The inheritance of anther extrusion in hexaploid wheat and its relationship to *Fusarium* head blight resistance and deoxynivalenol content. *Plant Breed.* **129**: 149–155.

Sobrova P, Adam V, Vasatkova A, Beklova M, Zeman L, Kizek R.. 2010: Deoxynivalenol and its toxicity. *Interdisciplinary toxicology* **3**: 94–99.

Solarska E, Kuzdralinski A, Marzec M. 2012. Toxigenic fungi and mycotoxins in organic spelt and its products. *J Agric Sci Technol A.* **2**:168–177.

Stehno Z. 2001: Pěstování a možnosti využití pluchatých pšeníc. Pěstování a využití některých opomíjených a netradičních plodin v ČR : Sborník referátů a posterů z odborné konference Praha-Ruzyně : Výzkumný ústav rostlinné výroby. Praha

Suchý K, et al. 2018. Influence of Husk on Grain Contamination by *Fusarium spp.* And *Alternaria spp.* in Hulled Spelt (*Triticum spelta* L.). *Environmental Engineering and Management Journal* **4**: 885 – 895.

Sumíková T, Chrpová J, Džuman Z, Salava J, Štěrbová L, Palicová J, Slavíková P, Stránská-Zachariášová M, Hajšlová J. (a) 2017. Mycotoxins content and its association with changing patterns of *Fusarium* pathogens in wheat in the Czech Republic. *World Mycotoxin Journal* **10**: 143 – 151.

Sumíková T, Salava J, Štěrbová L, Chrpová J. (b) 2017. Původci klasových fuzarióz pšenice v roce 2016. *Úroda* **11**: 12 – 15

Sýkorová S, Šíp V, Nevrklová M, Sypecká Z, Hajšlová J, Hýsekk J. 2003. The survey of *Fusarium* mycotoxins content in grain of winter wheat cultivars collected from different regions of the Czech Republic. *Proceedings of the 10th International Wheat Genetics Symposium*. September 1-6, 2003, Paestrum, Italy, in: Pogna, N. E., Romano, M., Pogna, E. A., Galterio, G. (eds.). 1266-1268.

Šíp V, Sýkorová S, Stuchlíková E, Chrpová J. 2002. The effect of infection with *Fusarium culmorum* L on deoxynivalenol content in grain of selected winter wheat varieties. *Journal of Applied Genetics*, **43A**: 319-332.

Šíp V, Chrpová J, Leišová L, Sýkorová S, Kučera L, Ovesná J. 2007. Effects of genotype, environment and fungicide treatment on development of Fusarium head blight and accumulation of DON in winter wheat grain. *Czech Journal Genetetic Plant Breed* **1**: 16–31

Tichá M, Vyzínová P. 2006. *Polní plodiny*, Brno. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno.

Tvarůžek L, Matušinsky P, Vyšohlídová M. 2012. *Metodika pro zakládání a hodnocení pokusů s umělou inokulací obilnin fuzariózami klasů*. Agrofest fyto, s.r.o., Kroměříž.

Tvrzník P, Zeman L, Suchý P, Herzig, I, Harazim J. 2007. *Hodnocení rizik nežádoucích látek v krmivech*. Praha – Uhřetěves: Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Vědecký výbor výživy zvířat.

Vavreinová S, Gabrovská D, Rysová J, Laknerová I. 2012. *Využití netradičních plodin pro výrobu potravin*. *Potravinářská revue* **4**: 13 – 16

Xu X M, Nicholson P, Thomsett MA, Simpson D, Cooke B M, Doohan F M, Brennan J, Monaghan S, Moretti A, Mule G, Hornok L, Beki E, Tatnell J, Ritieni A, Edwards S G. 2008. Relationship between the fungal complex causing Fusarium head blight of wheat and environmental conditions. *Phytopathology*. **98**: 69-78.

Wasserbauerová K, 2011: *Mykotoxiny v silážích*. [Bakalářská práce]. Mendelova univerzita v Brně, Brno.

Wiwart M, Kandler W, Perkowski J, Berthiller F, Preinerstorfer B, Suchowilska E. 2009. Concentrations of some metabolites produced by fungi of the genus Fusarium and selected elements in spring spelt grain. *Cereal Chem* **86**:52–60.

Seznam obrázků

Obrázek č. 1: Spóry *Fusarium culmorum*

Obrázek č. 2: Destička pro ELISA test

Obrázek č. 3: Příprava inokula

Obrázek č. 4: Příprava vzorků pro ELISA test

Obrázek č. 5: Klasy pšenice seté po umělé inokulaci *Fusarium culmorum*

Obrázek č. 6: Klasy pšenice špaldy po umělé inokulaci *Fusarium culmorum*

Seznam tabulek

Tabulka č. 1: Průměrné teploty a suma srážek na lokalitě Praha-Ruzyně (květen – červenec 2016–2018)

Tabulka č. 2: Charakteristika odrůd pšenice seté (*Triticum aestivum*)

Tabulka č. 3 a: Charakteristika odrůd pšenice špaldy (*Triticum spelta*) č. 1 – 40

Tabulka č. 3 b: Charakteristika odrůd pšenice špaldy (*Triticum spelta*) č. 41 - 80

Tabulka č. 4: Symptomatické hodnocení a obsah DON u vzorků pšenice seté (*Triticum aestivum*) po umělé inokulaci *F. culmorum*, Praha – Ruzyně 2016-18. Hodnoty označené ve sloupcích stejnými písmeny nejsou statisticky odlišné (LSD, $P < 0,05$).

Tabulka č. 5 a: Symptomatické hodnocení a obsah DON u vzorků pšenice špaldy (*Triticum spelta*) 1 – 40 po umělé inokulaci *F. culmorum*, Praha – Ruzyně 2016-18. Hodnoty označené ve sloupcích stejnými písmeny nejsou statisticky odlišné (LSD, $P < 0,05$).

Tabulka č. 5 b: Symptomatické hodnocení a obsah DON u vzorků pšenice špaldy (*Triticum spelta*) 41 – 80 po umělé inokulaci *F. culmorum*, Praha – Ruzyně 2016-18. Hodnoty označené ve sloupcích stejnými písmeny nejsou statisticky odlišné (LSD, $P < 0,05$).

Tabulka č. 6 a: Porovnání odrůd pšenice seté a pšenice špaldy pro obsah DON po umělé inokulaci *F. culmorum*.

Hodnoty označené ve sloupcích stejnými písmeny nejsou statisticky odlišné.

Tabulka č. 6 b: Porovnání odrůd pšenice seté a pšenice špaldy pro obsah DON po umělé inokulaci *F. culmorum*.

Hodnoty označené ve sloupcích stejnými písmeny nejsou statisticky odlišné.

Tabulka č. 7: Průměrné čtverce analýzy rozptylu pro sledované znaky obsah DON (mg/kg) a symptomatického hodnocení. Hodnocení odrůd pšenice seté a pšenice špaldy (2016 – 2018)

Tabulka č. 8: Analýzy korelací mezi hodnocenými znaky symptomatického hodnocení a obsah DON ($P < 0,05$)

Seznam grafů

Graf č. 1: Porovnání průměrného obsahu DON v obalech a zrnech pšenice špaldy po umělé inokulaci *Fusarium culmorum* (Praha Ruzyně 2017 a 2018)

Graf č. 2: Porovnání průměrného obsahu DON v zrnu po umělé inokulaci *Fusarium culmorum* u pšenice špaldy a pšenice seté

Graf č. 3: Vliv ročníku na průměrný obsah DON v zrnu